

УДК 574.9:574.24:547.99

ФИКОТОКСИНЫ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ

© 2025 г. Т. В. Лауринавичене¹ (ORCID: 0000-0002-2600-0557),
П. А. Старыгина¹ (ORCID: 0000-0002-8384-5329),
Т. Ю. Орлова² (ORCID: 0000-0002-5246-6967),
А. А. Цыганков¹, * (ORCID: 0000-0003-2376-5658)

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН,
обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, 142292 Россия

²Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского
(ННЦМБ) ДВО РАН, Владивосток, 690041 Россия

*e-mail: ttt-00@mail.ru

Поступила в редакцию 16.04.2024 г.

После доработки 24.11.2024 г.

Принята к публикации 27.11.2024 г.

Динофлагелляты — крупная группа протистов с разнообразными морфогенетическими формами и типами питания (фототрофия, миксотрофия и гетеротрофия). Вспышки роста динофлагеллят, так называемые вредоносные цветения водорослей (ВЦВ), могут стать причиной гибели рыбы, птиц, млекопитающих и других животных, а также нести реальную опасность для здоровья людей, вследствие употребления морепродуктов, загрязненных фикотоксинами. Поэтому выявление факторов, влияющих на синтез фикотоксинов, важно для предсказания возможного появления ВЦВ. Повышение синтеза фикотоксинов динофлагеллятами в лабораторных условиях необходимо для их использования в биотехнологических целях. В данном обзоре обобщены литературные данные по влиянию основных физико-химических и биотических факторов на синтез токсинов морскими фотосинтезирующими динофлагеллятами, в особенности сакситоксина и его производных. Основное внимание уделено влиянию на синтез фикотоксинов абиотических факторов, таких как концентрация азота, фосфора, микроэлементов, температура, освещенность, соленость, pH, концентрация углекислоты. Рассматриваются также некоторые биотические факторы. Отмечено существенное действие на синтез фикотоксинов копеподамидов, низкомолекулярных соединений, синтезируемых копеподами. Рассмотрены генетические основы синтеза фикотоксинов на примере сакситоксина.

Ключевые слова: динофлагелляты, сакситоксин и его производные, синтез фикотоксинов, недостаток азота, недостаток фосфора, температура, соленость, интенсивность света, CO₂

DOI: 10.31857/S0134347525020013, EDN: GBZGRG

Динофлагелляты — крупная группа протистов с разнообразными морфогенетическими формами и типами питания (автотрофия, миксотрофия и гетеротрофия). Значительная часть динофлагеллят содержит хлоропласты и поэтому способна к фотоавтотрофному и миксотрофному типам питания. Около 90% динофлагеллят обитают в морских водах, являясь существенным компонентом морских экосистем, в которых иногда доминируют, несмотря

на невысокую скорость роста. Это может обуславливаться синтезом вторичных метаболитов, имеющих аллелопатические свойства. Такие вещества обеспечивают защиту водорослей от хищников и оказывают токсическое действие на другие организмы. Среди видов токсинообразующего морского фитопланктона на долю динофлагеллят приходится около 75–80%, причем выделяемые динофлагеллятами токсины относятся к числу наиболее

мощных из известных биотоксинов (Вершинин, Орлова, 2008). Вспышки роста динофлагеллят, так называемые вредоносные цветения водорослей (ВЦВ), ранее известные как “красные приливы”, регулярно регистрируются практически во всех приморских государствах (Anderson et al., 2012), включая прибрежные воды Дальнего Востока РФ (Вершинин, Орлова, 2008). ВЦВ, вызванные токсинообразующими микроводорослями, могут стать причиной гибели рыб, птиц, млекопитающих и других животных, а также нести реальную опасность для здоровья людей, вследствие употребления морепродуктов, загрязненных фикотоксинами (Hallegraeff et al., 2023). Поэтому неудивительно, что в настоящее время уделяется большое внимание изучению этого вопроса.

Наряду с экологическими, химическими и медицинскими проблемами актуальным становится исследование основных факторов, влияющих на синтез токсинов динофлагеллятами. Закономерности синтеза фикотоксинов важно изучать и понимать, чтобы предсказывать ВЦВ. При анализе морепродуктов на наличие фикотоксинов нужно иметь средства для их экспресс-индикации. Необходимо получить токсины в чистом виде в качестве стандартов и для создания антител, используемых в тест-системах. Кроме того, рассматривается потенциальная возможность использования таких токсинов как лекарственных средств с цитотоксической, противораковой, антибиотической и противогрибковой активностью (Oliveira et al., 2020; Montuori et al., 2023). Стоит отметить, что при запросе с ключевыми словами *dinoflagellates* и *toxins* Google Scholar сообщает о 5540 публикаций с 2023 года (дата обращения 13.06.2024). При этом в российской литературе (по данным e-library, дата обращения: 13.06.2024) за этот же период опубликовано 127 публикаций с упоминанием динофлагеллят и 19 публикаций с одновременным упоминанием терминов “динофлагелляты” и “токсины”. Поскольку в российской литературе последние годы не встречаются публикации, посвященные изучению факторов, влияющих на синтез токсинов динофлагеллятами, обзор, суммирующий последние данные в этой области исследований, представляется не только новым, но и актуальным для российской аудитории.

Данный обзор направлен на обобщение литературных данных по влиянию основных физико-химических и биотических факторов на синтез токсинов морскими фотосинтезирующими динофлагеллятами с основным вниманием к сакситоксину и его производным.

КЛАССИФИКАЦИЯ ФИКОТОКСИНОВ И ИХ РОЛЬ В ПРИРОДЕ

По химической структуре фикотоксины морских динофлагеллят подразделяются на следующие группы: линейные и макроциклические простые полиэферы, например, окадаевая кислота (ОА) и динофизитоксины (DTX); простые полиэферы лестничного типа, например, сидуатоксины (СТХ) и бреветоксины (ВТХ); макроциклические имины, например, спиролиды (SPX) и гимнодимины (GYM); токсичные вторичные амины, например, домоевая кислота (DA); тетрагидропурины, например, сакситоксины (STX), их моносulfатированные производные гониаутоксины (GTX1–GTX6); дисulfатированные производные (C1–C5), а также гидроксильированная производная neoSTX (Akbar et al., 2020; Camacho-Muñoz et al., 2021). Подробнее с химической структурой различных токсинов можно познакомиться в обзоре Стоника и Стоник (2010).

Исторически морские фикотоксины были классифицированы и названы в соответствии с характерными симптомами, которые они вызывают у человека после употребления зараженных морепродуктов: диарея (DSP, от *Diarrhetic Shellfish Poisoning*), например, окадаевая кислота, динофизитоксины, пектенотоксины и йессотоксины; амнестическое отравление (ASP, от *Amnesic Shellfish Poisoning*), например, домоевая кислота; паралитическое отравление (PSP, от *Paralytic Shellfish Poisoning*), например, сакситоксин и его производные; отравление азаспирацидом; нейротоксическое отравление (NSP, от *Neurotoxic Shellfish Poisoning*), например, бреветоксин; отравление рыбой сидуатера, например, сидуатоксин и майтотоксин (Стоник, Стоник, 2010; Camacho-Muñoz et al., 2021).

Считается, что токсины могут быть важны для выживаемости водорослей в неблагоприятных условиях окружающей среды, для обеспечения конкурентного преимущества

путем ингибирования роста сопутствующих микроводорослей, а также для защиты от зоопланктона (Selander et al., 2006; Anderson et al., 2012; Christou et al., 2023). В природных условиях концентрация токсинов в воде и в моллюсках-фильтраторах повышается во время массового развития токсичных видов микроводорослей (Mogilnikova et al., 2017). Полагают, что вслед за цветением диатомовых водорослей, массово вегетирующих на вбросах неорганических питательных веществ, динофлагелляты развиваются в результате увеличения количества растворенных органических веществ, высвобождающихся из разлагающейся биомассы. Отмечено, что возникновению ВЦВ способствует сочетание ряда факторов: соответствующая температура воды и воздуха, доступность питательных веществ, отсутствие течений или штормов (Tobin et al., 2019). Эти факторы влияют на рост водорослей, т.е. на количество накопленной биомассы, и опосредованно — на количество токсинов. В природе одновременно действует совокупность факторов, в лабораторных условиях воздействие этих факторов исследуют обычно по отдельности. В природных образцах *Alexandrium catenella* измеримый уровень PSP-токсинов обнаруживали при очень низких концентрациях (100 кл/л) (Tobin et al., 2019). Однако в лабораторных экспериментах концентрация STX прямо коррелировала с концентрацией клеток *Alexandrium* spp. (Lefebvre et al., 2008). Предполагают, что “цветение” может быть обусловлено массовым прорастанием цист (Орлова, Морозова, 2019). Показано, что в природных пробах *Alexandrium tamarense* общая концентрация токсина в цистах в 6 раз выше, чем в вегетативных клетках (Oshima et al., 1992). Дефицит азота или температурный стресс (повышение температуры) может стимулировать образование цист у разных видов холодноводных динофлагеллят, а дефицит фосфора не вызывает образования цист (Kremp et al., 2009).

Способность к синтезу токсинов у динофлагеллят является видоспецифичной, а также различается у разных штаммов. Так, например, анализ 30 штаммов *Alexandrium pacificum* выявил существенные внутривидовые различия, как по количеству токсинов, так и по их набору. В большинстве случаев доминировал GTX6 (до 96 моль %), который является наименее

токсичным из паралитических токсинов (Hadjadi et al., 2020). У *A. catenella* скорость образования токсина и его клеточное содержание было, по крайней мере в 10 раз больше, чем у *A. tamarense* (Xu et al., 2012). Таким образом, при изучении синтеза токсинов в природе, необходимо учитывать не только факторы внешней среды, но и концентрацию клеток динофлагеллят, их фазу жизненного цикла и род, к которому они принадлежат.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА СИНТЕЗ ТОКСИНОВ

Необходимо отметить, что синтез токсинов микроводорослями зависит от условий окружающей среды. Информация о том, как состав морской воды, а также климатические факторы (прежде всего температура и солнечная радиация), влияют на синтез токсинов микроводорослями, позволит предсказывать появление вредоносного цветения водорослей. Кроме того, токсины имеют и потенциальное медицинское применение как поверхностные анальгетики, ингибиторы роста некоторых раковых клеток и грибов (Oliveira et al., 2020; Montuori et al., 2023). Поэтому исследование влияния условий культивирования на синтез токсинов имеет не только экологическое, но и биотехнологическое значение.

Влияние ключевых факторов окружающей среды (состав макро- и микроэлементов, температура, соленость и интенсивность света) на синтез фикотоксинов изучали в основном на примере разных видов *Alexandrium* и *Prorocentrum*. В лабораторных условиях при выращивании периодических культур показано, что продукция токсинов имеет место ближе к стационарной фазе роста, что обычно связано с истощением какого-либо субстрата (McLachlan et al., 1994; Varkitzi et al., 2010). Считается, что ограничение питательных веществ является наиболее универсальной стратегией, используемой для увеличения производства фикотоксинов (Camacho-Muñoz et al., 2021). Однако при этом результат во многом может зависеть и от вида динофлагеллят, и от природы токсина (Vanucci et al., 2010; Varkitzi et al., 2010). Предполагается, что синтез PSP-токсинов максимален в ранней экспоненциальной фазе, когда скорость роста максимальна, и снижается

в стационарной фазе при лимитировании роста азотом (Anderson et al., 1990).

Для оценки синтеза токсинов используют как скорость его синтеза, так и содержание, рассчитанное на единицу объема (мл), единицу массы (г) или на одну клетку. Поскольку размеры клеток могут сильно варьировать в разных условиях роста (например, увеличиваться при лимитировании роста вследствие затруднения деления), последний способ расчета представляется менее адекватным. Кроме того, нужно иметь в виду, что в результате ограничения питательных веществ рост культур обычно снижается и уменьшается концентрация клеток. Следовательно, даже при увеличении удельного содержания токсина в расчете на одну клетку общее содержание токсина в расчете на единицу объема культуры может быть пониженным.

Поскольку максимальный уровень синтеза фикотоксинов зафиксирован в конце экспоненциальной — начале стационарной фазы роста, был предложен вариант двустадийного культивирования *A. tamarense* на стандартной нелимитированной среде (Hu et al., 2006). На первой стадии не рекомендуется использовать аэрацию и непрерывное перемешивание (допустимо лишь мягкое перемешивание). При этом у культуры наблюдается высокая скорость роста, но клетки имеют меньшие размеры. На второй стадии перемешивание и кратковременная аэрация оказывают положительное влияние как на урожай клеток (максимальная концентрация 17190 кл/мл), так и на количество токсина (1.26 пг/кл).

Некоторые виды динофлагеллят, в частности *Protoceratium reticulatum* (Gallardo-Rodríguez et al., 2010) и *Amphidoma languida* (Salas et al., 2023), успешно выращивают в фотобиореакторах. Однако даже эти микроводоросли обладают повышенной чувствительностью к турбулентному движению жидкости, поэтому плохо реагируют на перемешивание, встряхивание, аэрацию, что необходимо для равномерного обеспечения большого объема культуры питательными веществами и светом.

АБИОТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

1. Влияние азота и фосфора

Считается, что при выращивании в стрессовых условиях (например, при истощении питательных веществ), микроводоросли синтезируют

многочисленные вторичные метаболиты, в том числе фикотоксины, чтобы увеличить возможность выживания (Орлова, 2005). Однако реакция на стрессовые условия может отличаться у разных видов динофлагеллят и, кроме того, синтез фикотоксинов разной химической природы может регулироваться по-разному (Shimada et al., 2011). У динофлагеллят рода *Prorocentrum* недостаток азота приводил к увеличению продукции фикотоксинов (McLachlan et al., 1994; Accoroni et al., 2018). Обычно считается, что содержание PSP-токсинов возрастает с увеличением отношения N:P в клетках. У *Alexandrium fundyense* ограничение роста азотом, как правило, приводило к более высокому отношению C:N, более низким отношениям C:P и N:P и снижению содержания токсинов в клетках в стационарной фазе (John, Flynn, 2000). Обнаружена положительная связь между содержанием токсина и внутриклеточной концентрацией аргинина (John, Flynn, 2000). Показано также, что максимальное количество токсинов образовывали культуры *A. pacificum* (Abassi et al., 2023) и *A. catenella* (Saldivia et al., 2023) при высоких, но не ингибирующих рост концентрациях нитрата.

Химическая природа источника азота (нитрат—мочевина—аммоний) может иметь значение для синтеза фикотоксинов, но для разных родов/видов динофлагеллят данные отличаются. У *Prorocentrum* оптимальным для синтеза оокадаевой кислоты является нитрат (Camacho-Muñoz et al., 2021). У *A. catenella* и *A. tamarense* наиболее высокие показатели синтеза токсинов были получены на средах с аммонием (Leong et al., 2004; Xu et al., 2012). Источник азота влиял также на набор синтезируемых токсинов: в культурах *A. catenella*, использующих NO₃ или NH₄, содержалось 80–90% C1–C2 токсинов и 5–15% GTX (1–4) токсинов по сравнению с 65–75% C1–C2 токсинов и 25–35% GTX (1–4) токсинов при использовании мочевины (Xu et al., 2012).

Более универсальным является действие фосфора: лимитирование фосфора способствует синтезу токсинов у разных динофлагеллят. У *A. tamarense* и *A. fundyense* наблюдали 3–4-кратное увеличение токсичности при ограничении фосфора (Boyer et al., 1987; Anderson et al., 1990). *A. pacificum* также синтезировал повышенное

количество токсинов при недостатке фосфора (Chen et al., 2024). У *A. fundyense* и *A. minutum* ограничение фосфора приводило к увеличению размера клеток, более низкому отношению С: N и более высокому отношению С: P и N: P, а наибольшее увеличение синтеза PSP-токсина отмечено при совместном лимитировании фосфора и азота (John, Flynn, 2000; Lippemeier et al., 2003). При одновременном ограничении азота и фосфора наблюдали также увеличение синтеза оокадаевой кислоты и динофизистоксинов у *P. lima* (Vanucci et al., 2010; Varkitzi et al., 2010).

Синтез PSP-токсинов у *A. tamarensis* изучали в периодических культурах большого объема (20 л). В условиях с избытком питательных веществ этот штамм продуцировал преобладающее количество C2-токсина. Истощение фосфата наблюдали на 6 сут при общей продолжительности культивирования 15 сут. Наибольший синтез токсина (76 фмоль/клетку) отмечен на 10 сут, т.е. после истощения фосфата в среде (Wang, Hsieh, 2001).

В культурах *A. pacificum* при лимитировании фосфата в режиме хемостата при самых высоких скоростях роста клетки продуцировали более высокие уровни PSP-токсинов с более разнообразным профилем, чем при лимитировании азота (Han et al., 2016). В периодических культурах с начальным лимитированием и последующим восполнением N (или P), восполнение N обеспечило более разнообразный профиль, но более низкое содержание PSP-токсинов. Основываясь на характере изменения профиля токсинов в зависимости от доступности питательных веществ, предлагался следующий порядок биосинтеза отдельных токсинов: C1, C2 > GTX3 > GTX1 > neoSTX. Авторами сделан вывод, что дефицит азота и фосфора, и азота может влиять на токсичность *Alexandrium* в природных условиях (Han et al., 2016).

На двух видах *Alexandrium* проверяли также эффект органических и неорганических соединений азота и фосфора. У *A. catenella* органические соединения фосфора обеспечивали повышенную скорость образования токсина (Xu et al., 2012). Добавление органического или неорганического фосфора в культуру *A. pacificum* приводило к близким концентрациям токсинов внутри клеток (Chen et al., 2024). Следует отметить, что разброс данных при подсчете клеток

был более 20%, а при оценке концентрации токсинов доверительный интервал достигал 50% (Xu et al., 2012). При этом изменение абсолютных значений содержания токсинов находилось в диапазоне 2–10 пмоль на клетку (за исключением двух точек), что близко к суммарному доверительному интервалу. Потому нельзя исключить, что полученные противоречивые данные могут быть следствием неточностей эксперимента.

Изучали содержание токсинов в зависимости от обеспечения фитопланктона азотом и фосфором как в целом, так и при разделении фитопланктона на динофлагелляты и цианобактерии (Brandenburg et al., 2020). При этом анализировали лишь токсины, содержащиеся в составе повышенное (более 1:6.6 по отношению к углероду) количество азота: PSP-токсины (1:1.5), цилиндроспермопсин (1:3), микроцистин (1:4.3) и нодуларин (1:5.3), обозначая их N-токсинами. При ограничении роста фитопланктона азотом содержание этих токсинов (за исключением цилиндроспермопсина) имело тенденцию к снижению, а при ограничении фосфором — возрастало. Содержание цилиндроспермопсина не проявляло однозначной зависимости от обеспечения азотом или фосфором. При этом разные роды и виды фитопланктона по-разному реагировали на недостаток азота и фосфора. У динофлагеллят вариативность ответа в зависимости от вида была ниже, чем у цианобактерий, т.е. динофлагелляты разной систематической принадлежности реагировали более однообразно.

По мнению Пинна, накопление C-токсинов (в составе которых содержание углерода было существенно выше, чем азота (C: N > 6.6), может стимулироваться как дефицитом N, так и дефицитом P, а синтез N-токсинов (C: N < 6.6) стимулируется только ограничением P (Pinna et al., 2015). В культуре динофлагелляты *Gambierdiscus polynesiensis* не наблюдали существенного влияния отношения N: P и источника N на общее содержание цигуатоксина (Longo et al., 2020).

Полагают, однако, что N: P-стехиометрии недостаточно для интерпретации и прогнозирования динамики накопления токсинов (Van de Waal et al., 2014). Ряд исследователей считают, что синтез фикотоксинов зависит также от относительного содержания углерода: самые высокие

уровни синтеза коррелируют с высоким содержанием углерода (Pinna et al., 2015). Вероятно, это связано с тем, что синтез С-токсинов более чувствителен к нескольким факторам окружающей среды (например, к свету, CO₂) в дополнение к основным питательным веществам (Davidson et al., 2014). При несбалансированных условиях роста (например, при увеличении С:Р) производство С-токсина можно интерпретировать как способ накопления избытка углерода (Van de Waal et al., 2014) и/или вторичных метаболитов.

Ученые из Технического университета (Гонконг) с помощью 2D электрофореза разделяли белковые фракции у штамма *A. catenella*, продуцента PSP-токсинов, и сравнивали с близкородственным штаммом, который не обладал токсичностью (Tse et al., 2020). Кроме того, токсичный штамм выращивали в обычной среде и в среде с 10% фосфатов и также сравнивали протеом. Наиболее различающиеся белковые фракции анализировали и определяли их принадлежность. Оказалось, что токсичный штамм производил больше белков, связанных с получением энергии (в частности, белки фотосинтетической антенны и АТФазу), чем нетоксичный штамм. Авторы сделали вывод, что у токсичного штамма метаболизм запасания энергии света (фотосинтез и запасание трансмембранного потенциала) работает активнее, и может существовать механизм, связывающий токсичность и биоэнергетику клетки. При этом токсичный штамм при недостатке фосфора синтезировал меньше белков, связанных с биоэнергетикой, хотя синтезировал значительно больше PSP-токсинов. Авторы заключили, что существует дополнительный механизм регуляции синтеза токсина, который светонезависим, но зависит от обеспечения клеток фосфором.

2. Состав микроэлементов

Наличие определенных микроэлементов может способствовать выработке фикотоксинов динофлагеллятами (Rhodes et al., 2006; He et al., 2010). Например, Se в пикомолярных концентрациях увеличивал примерно на 50% содержание эфира омега-3 кислоты в расчете на одну клетку *Prorocentrum lima* (Rhodes et al., 2006). Увеличение концентрации Cu от 40 до 5039 нМ ограничивало рост *P. lima* на 36%, но увеличивало концентрацию омега-3 кислоты в 1.8 раза (до 27 пг/кл) (Gu et al., 2019).

Точное воспроизведение состава микроэлементов морской воды при замене ее искусственной морской водой является важной задачей. В состав среды ESAW, в частности, входят Zn, Co, Mn, Mo, Se, Ni, B, Br, F и Sr. Хотя использование искусственной морской воды допустимо для культивирования морских динофлагеллят, ее длительное применение может снижать синтез биоактивных веществ (Hsieh et al., 2001). Эксперименты с выращиванием *P. lima* на средах f/2, приготовленных с использованием натуральной морской воды, искусственной морской воды и соленой воды (содержащей только NaCl 35 г/л), показали, что при применении соленой воды нарушается целостность клеток. В случае искусственной морской воды наблюдали существенное снижение продукции омега-3 кислоты (на 70%) уже после второго цикла культивирования (Praptiwi, 2014). Можно полагать, что в искусственной морской воде, которая максимально имитировала природную морскую воду, все же отсутствовали микроэлементы или иные соединения, необходимые для синтеза фикотоксинов.

3. Свет и CO₂ / аэрация

Динофлагелляты с хлоропластами способны к фотоавтотрофному и миксотрофному типу питания. В обоих случаях их рост зависит от наличия и интенсивности света. В лабораторных условиях обычно используют люминесцентные лампы. В последнее время также применяют светодиодные лампы, которые экономичны и способны излучать свет нужного спектра (Schulze et al., 2014; López-Rosales et al., 2016). Данные о влиянии интенсивности света и продолжительности фотопериода касаются главным образом параметров роста, а сведения о непосредственном влиянии на синтез фикотоксинов немногочисленны. Содержание токсина у *A. catenella* было стабильным при освещенности от 10 до 70 мкмоль фотонов м⁻² сек⁻¹, лишь немного увеличивалось при дальнейшей интенсивности освещенности (Laabir et al., 2013). Исследования на 20 штаммах *Alexandrium* показали, что в условиях лимитирования света (20 мкмоль фотонов м⁻² сек⁻¹) и углерода (в виде углекислоты) есть положительная корреляция между продукцией PSP-токсина и ростом культуры, как по накоплению биомассы, так и по количеству клеток (Blossom et al., 2019).

Эти же авторы показали, что в нелимитированных условиях (свет 300 мкмоль фотонов м⁻² сек⁻¹), напротив, увеличение синтеза PSP-токсина наблюдали при снижении скорости роста культуры. По мнению авторов, такое снижение скорости роста является ценой за синтез токсических соединений, дающих микроводорослям экологическое преимущество.

Дополнительное обогащение CO₂ путем аэрации с небольшими пузырьками было полезным для увеличения клеточной массы и выхода токсинов у *A. tamarense* (Wang, Hsieh, 2001). При культивировании *A. tamarense* для увеличения урожая клеток и выхода токсина эффективна аэрация культуры после нескольких суток начального роста в щадящих условиях (Hu et al., 2006). Увеличение концентрации CO₂ в газовой фазе стимулирует лишь медленно растущие культуры водорослей, но не влияет на быстро растущие (Kremp et al., 2012).

С помощью многофакторного эксперимента в течение восьми месяцев изучали влияние температуры, концентрации CO₂ в газовой фазе и фосфатов в культуре *A. catenella*, синтезирующей PSP-токсин (Tatters et al., 2013). Исследовали три фактора, каждый из которых устанавливали на двух уровнях (температура 15 и 19°C, концентрация CO₂ в газовой фазе 0.038 и 0.075%, содержание фосфата в среде 0.4, и 2 мкМ). Под действием этих факторов изменялась скорость роста и фиксации углерода, а также общая клеточная токсичность, хотя профиль токсинов менялся мало. Высокий показатель концентрации CO₂ (природный уровень, прогнозируемый на 2075 г.) и низкое содержание фосфатов при низкой температуре (15°C) способствовали большей токсичности, в то время как пониженная концентрация CO₂, более высокие уровни фосфатов и более высокая температура (19°C) снижали эту токсичность в различной степени. Наблюдали также синергетический эффект одновременного действия повышенной концентрации CO₂ и избыточного содержания нитратов, приводящий к повышенному синтезу токсинов *A. minutum* (Li et al., 2024).

4. Температура, соленость и pH

Как природные, так и лабораторные исследования свидетельствуют, что температура сильно влияет на рост и производство фикотоксинов

динофлагеллятами. Температурный диапазон, обеспечивающий оптимальный рост и синтез биоактивных соединений, является видоспецифичным и зависит от климатических особенностей среды обитания этого вида (Aguilera-Belmonte et al., 2013). Так, динофлагелляты из тропических местообитаний имеют пониженную устойчивость к температурам ниже 20°C, чем динофлагелляты из местообитаний умеренного пояса (McLachlan et al., 1994; Accoroni et al., 2018). Исследования с чилийским штаммом *A. catenella* показали, что более высокие концентрации клеток достигаются при температуре 12°C, чем при 16°C (Navarro et al., 2006). Оптимальный диапазон температур для роста этого штамма отличался от показателей для штаммов этого вида, выделенных в других широтах, и коррелировал с температурными условиями в естественной среде обитания. Токсичность *A. catenella* варьировала при всех экспериментальных температурах с тенденцией к обратной зависимости от температуры: самые высокие значения имели место при температуре 10°C и самые низкие — при 16°C. Обратная зависимость токсичности этого штамма от температуры наблюдалась как в лабораторных, так и в полевых условиях. Работы, проведенные на *A. catenella* (штамм АСТ03) показали, что C2 токсин доминировал при температурах 12–18°C, но только при солености от 10 до 25‰, тогда как GTX5 токсин доминировал при температурах 21–30°C практически при всех соленостях (Laabig et al., 2013). Суммарное количество клеточного токсина не изменялось существенно при температурах от 18 до 27°C при солености в диапазоне от 30 до 40‰. При солености от 10 до 25‰ концентрация токсина всегда оставалась ниже 20 фмоль/клетку независимо от температуры.

Изменения солености могут повлиять на синтез фикотоксинов, либо влияя на рост культуры, либо воздействуя на биосинтез через осморегуляцию и утилизацию аминокислот (Parkhill, Cembella, 1999; Lim et al., 2011; Aguilera-Belmonte et al., 2013).

Для динофлагелляты *Gambierdiscus polynesiensis*, образующей цигуатоксины, показано снижение скорости роста и клеточной биомассы при низком pH (при использовании мочевины в качестве источника N). Однако значительно влияния pH, отношения N: P и источника N

на общее содержание СТХ не наблюдалось (Longo et al., 2020).

БИОТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Ранее было высказано предположение о том, что за синтез токсинов отвечают бактерии, сопутствующие динофлагеллятам. Однако на сегодняшний день существует мало убедительных доказательств, подтверждающих эту точку зрения (Tarazona-Janampa et al., 2020). В культурах *A. catenella* после удаления сапрофитных бактерий не изменились ростовые характеристики, за исключением замедления дезинтеграции клеток после достижения стационарной фазы. Способность к синтезу PSP-токсина сохранялась, хотя общая токсичность снижалась примерно в пять раз (Uribe, Espejo, 2003). В целом не подвергается сомнению факт синтеза токсинов самими динофлагеллятами, вопрос только в том, могут ли и в какой степени сопутствующие бактерии влиять на этот процесс.

В настоящее время распространена теория о защитной функции токсинов, которые способствуют выживанию динофлагеллят в условиях видовой или межвидовой конкуренции, а также при угрозе поедания зоопланктоном. Давно замечено, что при одновременном присутствии в морской воде динофлагеллят и копепоид содержание токсинов выше. Позднее было показано, что при этом синтез токсинов активируется с помощью химических соединений, выделяемых копеподами и выполняющих роль сигналов (Selander et al., 2006). Эти соединения выделены, определена их химическая структура, и они названы копеподамидами. Копеподамиды представляют собой полярные липиды разного состава, включающие таурин. Сообщалось о группе из восьми копеподамидов, выделяемых копеподами — веслоногими ракообразными, наиболее многочисленными в морском зоопланктоне и играющими центральную роль в пищевых цепях и биогеохимических циклах (Selander et al., 2006). К настоящему времени описан 31 вариант копеподамидов (Arnoldt et al., 2024). Присутствие копеподамидов в пико- и наномолярных концентрациях вызывает у *A. minutum* 20-кратное увеличение образования PSP-токсинов. Различные виды копепоид выделяют различные смеси копеподамидов, которые вызывают видоспецифические защитные

реакции. Было установлено, что *A. tamarense* реагирует на химические сигналы трех проверенных видов копепоид (*Calanus helgolandicus*, *Acartia clausii* и *Oithona similis*), и такая реакция не ограничивается одним лишь видом рода *Alexandrium* (Wohlrab et al., 2010). Другой вариант защитной реакции динофлагеллят от копепоид — короткие вспышки синего света (биолюминесценция). Как токсичность, так и биолюминесцентная способность снижаются в культурах динофлагеллят в отсутствие копепоид, но восстанавливаются в ответ на добавление копеподамидов (Lindström et al., 2017).

Генетические особенности синтеза токсинов на примере СТХ

Генетика биосинтеза СТХ подробно исследована у токсических видов цианобактерий. И хотя прокариотические цианобактерии и эукариотические динофлагелляты имеют лишь отдаленное родство, синтез СТХ у этих групп организмов происходит сходным образом. Первыми идентифицированными предшественниками СТХ и у цианобактерий, и у динофлагеллят являются аргинин, ацетат и S-аденозилметионин. У динофлагелляты *A. tamarense* были обнаружены некоторые промежуточные продукты, в частности, два первых продукта цианобактериального пути биосинтеза Int-A' и Int-C'2 (Tsuchiya et al., 2014; Cho et al., 2016).

Показано, что в процессе биосинтеза СТХ участвует комплекс ферментов, который кодируется кластером генов *sxt*, состоящим из 26–36 генов, играющих роль в биосинтезе, адаптации, транспорте и регуляции. Среди них не менее восьми основных генов, *sxtA*, *sxtG*, *sxtB*, *sxtD*, *sxtS*, *sxtU*, *sxtH/T* и *sxtI*, непосредственно участвуют в синтезе СТХ (Kellmann et al., 2008). У токсических видов динофлагеллят, в отличие от цианобактерий, гомологичные гены *sxt* были охарактеризованы с помощью секвенирования мРНК из-за высокого содержания GC, огромный размер генома с множеством тандемных повторов и некодирующих последовательностей). Большие размеры геномов динофлагеллят затрудняют идентификацию генов, ответственных за синтез токсинов, и многие вновь идентифицированные гены остаются неаннотированными. У динофлагеллят исследования в основном сосредоточены на трех

основных генах, *sxtA*, *sxtB* и *sxtG*, из-за их важной роли на начальном этапе синтеза STX (Kim et al., 2021; Bui et al., 2022).

Ген *sxtA* является наиболее изученным у *Alexandrium*, поскольку участвует в первой стадии биосинтеза STX. Показано, что С-концевая область *sxtA* обнаружена исключительно у динофлагеллят, продуцирующих STX (Hackett et al., 2012). В транскриптом *A. fundyense* были идентифицированы два различных семейства транскриптов гена *sxtA* (Stüken et al., 2011). Они различались по длине последовательности и кодировали разные каталитические домены: более длинный транскрипт кодировал все домены *sxtA* (*sxtA1–sxtA4*), как и их аналоги у цианобактерий, а более короткий транскрипт кодировал только домены *sxtA1–sxtA3*. Предполагается, что длинный транскрипт *sxtA1–A4* может быть вовлечен в биосинтез STX, поскольку его присутствие было выявлено у многих динофлагеллят, продуцирующих STX, включая *Gymnodinium catenatum* и *Pyrodinium bahamense* (Stüken et al., 2011; Hackett et al., 2012; Zhang et al., 2014). Это также согласуется с данными, показывающими корреляцию между числом копий гена *sxtA4* в геномах *A. minutum* и *A. ostenfeldii* и содержанием в них STX (Stüken et al., 2011). Подобное использование избыточных копий генов для производства транскриптов описано для некоторых эукариотических организмов и носит название “эффекта дозировки” (Zhang et al., 2009; Conrad et al., 2010).

Экспрессию *sxtA* и *sxtG* при различных режимах питания исследовали у штамма *A. minutum*, растущего с нитратами или аммонием и с различными соотношениями азота и фосфора (N:P). Результаты показали, что квота клеточного токсина (Q_t) была выше в лимитированных фосфором культурах, выращенных на нитратах. В культурах с соотношением N:P < 16 клетки, выращенные с избытком аммония, показали более высокую Q_t , чем клетки, выращенные с нитратом. Ген *sxtA1* не экспрессировался ни в каких условиях культивирования, что позволяет предположить, что он может не участвовать в биосинтезе STX этим штаммом. И наоборот, экспрессия *sxtA4* и *sxtG* показала положительную корреляцию с Q_t и повышалась в культурах, лимитированных фосфором, выращенных на нитратах и с избытком аммония.

С другой стороны, *sxtI* (кодирует О-карбамоилтрансферазу) экспрессировался только тогда, когда индуцировался уменьшением фосфора. Предполагается, что этот ген может играть важную роль в метаболизме фосфора, одновременно увеличивая продукцию токсина (Hii et al., 2016).

Остальные гены *sxt* изучены в меньшей степени. В частности, показано, что *sxtU* кодирует короткоцепочечную дегидрогеназу, участвующую в последнем этапе синтеза STX (Kellmann et al., 2008). У цианобактерий экспрессия генов *sxtA*, *sxtG* и *sxtU* может использоваться для анализа содержания STX при различных условиях культивирования (Vico et al., 2016). У динофлагеллят изучали присутствие *sxtU* в токсических и нетоксических видах с использованием крупномасштабного транскриптомного анализа (Vingiani et al., 2020; Wang et al., 2021). Молекулярные особенности и механизм регуляции *sxtU* у токсичных динофлагеллят неясны (Bui, Ki, 2023). Охарактеризован полноразмерный *sxtU* из токсичного *A. pacificum*. Показано, что уровень экспрессии *ApsxtU* достигал максимума в стационарной фазе при солености 40‰, но не коррелировал с содержанием токсина (Bui, Ki, 2023). По-видимому, *sxtU* может участвовать не только в синтезе STX, но и в других метаболических процессах у динофлагеллят, как это известно для *sxtI*, участвующего в синтезе антибиотиков (Akbar et al., 2020).

В последнее время изучено участие генов *sxt* в синтезе STX в условиях различной солености и температуры. Обнаружено, что у *A. catenella* экспрессию генов *sxtA4* и *sxtG* (наряду с содержанием STX) стимулирует холододовый стресс (Kim et al., 2021). У *A. pacificum* инкубация при низких температурах (12 и 16°C) и холододовый стресс (в отличие от теплового стресса) вызывают увеличение экспрессии *sxtA* и *sxtG*, а также увеличение содержания STX (Wang et al., 2022). Для *A. pacificum* показано, что соленость влияет на рост, размер клеток, количество и состав токсинов, однако не обнаружено корреляции этого показателя с уровнем транскрипции *sxtA4* и *sxtG* (Bui et al., 2021).

Следует отметить, что генетическая система синтеза STX изучена не в полной мере. Так, например, у *A. affine* присутствуют все гены, необходимые для биосинтеза STX, за исключением *sxtX*,

однако уровень их транскрипции очень низкий (Kim et al., 2023). Таким образом, у этого вида потеряна важная, но еще неизвестная составляющая генетической системы синтеза STX или нарушена регуляция синтеза этого токсина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя приведенные литературные данные, можно утверждать, что основными абиотическими факторами, которые могут влиять на синтез динофлагеллятами токсинов, являются доступность макро- и микроэлементов, соотношение основных макроэлементов C:N:P, температура и свет. Мощным стимулом для образования фикотоксинов являются копеподамиды, образуемые копеподами. В зависимости от химической природы токсинов влияние факторов может быть различным. Регуляция синтеза и набор образуемых токсинов сильно варьируют в зависимости от вида и штамма динофлагеллят. Примеры действия какого-либо фактора на синтез конкретных токсинов у отдельных видов/штаммов динофлагеллят многочисленны. Однако действие комбинаций двух и более факторов мало изучено и трудно предсказуемо для вновь выделенных штаммов. Таким образом, имеющихся данных по влиянию факторов внешней среды на синтез динофлагеллятами токсинов явно недостаточно для предсказания, когда в природе возникнет ВЦВ. Можно полагать, что для начала ВЦВ необходимо наличие большого количества динофлагеллят совместно с повышенным количеством копепод. В этом случае синтезируемые копеподами копеподамиды индуцируют увеличение синтеза токсинов динофлагеллятами. Однако такое предположение еще следует подтвердить на практике. После этого необходимо разработать методы мониторинга этой ситуации, предложить стратегию предотвращения совместного развития динофлагеллят и копепод. Тем не менее, можно сделать биотехнологический вывод. В случае, если исследователям требуется получить больше токсинов для изучения их медицинского применения или для создания тест-систем оценки содержания токсинов в продуктах питания, можно с уверенностью рекомендовать выращивать динофлагелляты в присутствии экстрактов копепод, в частности рода *Calanus*, синтезирующих копеподамиды.

Следует отметить, что в период работы авторов над замечаниями рецензентов появился обзор, направленный на выявление факторов внешней среды, влияющих на синтез сакситоксина и его производных (Bui et al., 2024). Несмотря на различия в методологических подходах, авторы обзора также приходят к выводу, что "...необходимы дальнейшие исследования для понимания молекулярных механизмов синтеза STX ...".

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Важнейшего инновационного проекта государственного значения (ВИП ГЗ) и поддержана Федеральной службой по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды Российской Федерации (Соглашение № 169-15-2023-002 от 01.03.2023 г., ТЮО), а также гос. задания (122041200039-0, ТВЛ, ПАС, ААЦ).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вершинин А.О., Орлова Т.Ю. Токсичные и вредные водоросли в прибрежных водах России // Океанология. 2008. Т. 48. № 4. С. 568–582.
- Орлова Т.Ю. Красные приливы и токсические микроводоросли в Дальневосточных морях России // Вестн. ДВО РАН. 2005. № 1. С. 27–31.
- Орлова Т.Ю., Морозова Т.В. Цисты динофлагеллят рода *Alexandrium* HALIM, 1960 (Dinophyceae: Gonyaulacales) из поверхностных осадков северо-западной части Тихого океана // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 6. С. 363–373.
- Стоник В.А., Стоник И.В. Морские токсины: химические и биологические аспекты изучения // Успехи химии. 2010. Т. 79. № 5. С. 442–465.
- Abassi S., Kim H.S., Bui Q.T.N., Ki J.S. Effects of nitrate on the saxitoxins biosynthesis revealed by *sxt* genes in the toxic dinoflagellate *Alexandrium pacificum* (group IV) // Harmful Algae. 2023. V. 127. Art. ID102473.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2023.102473>

- Accoroni S., Ceci M., Tartaglione L. et al. Role of temperature and nutrients on the growth and toxin production of *Prorocentrum hoffmannianum* (Dinophyceae) from the Florida Keys // *Harmful Algae*. 2018. V. 80. P. 140–148.
- Aguilera-Belmonte A., Inostroza I., Carrillo K.S. et al. The combined effect of salinity and temperature on the growth and toxin content of four Chilean strains of *Alexandrium catenella* (Whedon and Kofoid) Balech 1985 (Dinophyceae) isolated from an outbreak occurring in southern Chile in 2009 // *Harmful Algae*. 2013. V. 23. P. 55–59.
- Akbar M.A., Mohd Yusof N.Y., Tahir N.I. et al. Biosynthesis of saxitoxin in marine dinoflagellates: an omics perspective // *Mar. Drugs*. 2020. V. 18. № 2. Art. ID103.
- Anderson D.M., Cembella A.D., Hallegraeff G.M. Progress in understanding harmful algal blooms: paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management // *Ann. Rev. Mar. Sci.* 2012. V. 4. P. 143–176.
- Anderson D.M., Kulis D.M., Sullivan J.J., Hall S. Toxin composition variations in one isolate of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense* // *Toxicon*. 1990. V. 28. P. 885–893.
- Arnoldt S., Pourdanandeh M., Spikkeland I. et al. Mass spectroscopy reveals compositional differences in copepodamides from limnic and marine copepods // *Sci. Rep.* 2024. V. 14. Art. ID3147. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53247-1>
- Blossom H., Markussen B., Daughjerg N. et al. The cost of toxicity in microalgae: direct evidence from the dinoflagellate *Alexandrium* // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. Art. ID1065.
- Boyer G., Sullivan J., Andersen R. et al. Effects of nutrient limitation on toxin production and composition in the marine dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis* // *Mar. Biol.* 1987. V. 96. P. 123–128.
- Brandenburg K., Siebers L., Keuskamp J. et al. Effects of nutrient limitation on the synthesis of N-rich phytoplankton toxins: a meta-analysis // *Toxins (Basel)*. 2020. V. 12. № 4. Art. ID221.
- Bui Q.T.N., Kim H., Park H., Ki J.-S. Salinity affects saxitoxins (STXs) toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium pacificum*, with low transcription of SXT-biosynthesis genes *sxtA₄* and *sxtG* // *Toxins (Basel)*. 2021. V. 13. № 10. Art. ID733.
- Bui Q.T.N., Kim H.-S., Ki J.-S. Low salinity causes oxidative stress and modulates specific antioxidant gene expression in the toxic dinoflagellate *Alexandrium pacificum* // *J. Appl. Phycol.* 2022. V. 34. P. 2437–2447.
- Bui Q.T.N., Ki J.-S. Molecular characterization and expression analysis of saxitoxin biosynthesis gene *sxtU* from toxigenic dinoflagellate *Alexandrium pacificum* // *J. Appl. Phycol.* 2023. V. 35. № 2. P. 687–700.
- Bui Q.T.N., Pradhan B., Kim H.S., Ki J.S. Environmental factors modulate saxitoxins (STXs) production in toxic dinoflagellate *Alexandrium*: an updated review of STXs and synthesis gene aspects // *Toxins (Basel)*. 2024. V. 16. № 5. Art. ID210. <https://doi.org/10.3390/toxins16050210>
- Camacho-Muñoz D., Praptiwi R.A., Lawton L.A., Edwards C. High value phycotoxins from the dinoflagellate *Prorocentrum* // *Front. Mar. Sci.* 2021. V. 8. Art. ID638739.
- Chen T., Chen X., Sun H. et al. Unveiling the responses of *Alexandrium pacificum* to phosphorus utilization by physiological and transcriptomic analysis // *Sci. Total Environ.* 2024. V. 911. Art. ID168759. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168759>
- Cho Y., Tsuchiya S., Yoshioka R. et al. Column switching combined with hydrophilic interaction chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of saxitoxin analogues, and their biosynthetic intermediates in dinoflagellates // *J. Chromatogr.* 2016. V. 1474. P. 109–120.
- Christou E.D., Varkitzi I., Maneiro I. et al. The influence of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum*, grown under different N: P ratios, on the marine copepod *Acartia tonsa* // *Toxins*. 2023. V. 15. Art. ID287. <https://doi.org/10.3390/toxins15040287>
- Conrad O., Pinto D., Redon D. et al. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome // *Nature*. 2010. V. 464. P. 704–712.
- Davidson K., Gowen R.J., Harrison P.J. et al. Anthropogenic nutrients and harmful algae in coastal waters // *J. Environ. Manage.* 2014. V. 146. P. 206–216.
- Gallardo-Rodríguez J.J., Sánchez-Mirón A., García-Camacho F. et al. Culture of dinoflagellates in a fed-batch and continuous stirred-tank photobioreactors: growth, oxidative stress and toxin production // *Process Biochem.* 2010. V. 45. P. 660–666.
- Gu S., Xiao S.-W., Zheng J.-W. et al. ABC transporters in *Prorocentrum lima* and their expression under different environmental conditions including okadaic acid production // *Mar. Drugs*. 2019. V. 17. № 5. Art. ID259.
- Hackett J.D., Wisecaver J.H., Brosnahan M.L. et al. Evolution of saxitoxin synthesis in cyanobacteria and dinoflagellates // *Mol. Biol. Evol.* 2012. V. 30. P. 70–78.
- Hadjadji I., Laabir M., Frihi H. et al. Unsuspected intra-specific variability in the toxin production, growth and morphology of the dinoflagellate *Alexandrium pacificum* R.W. Litaker (Group IV) blooming in a South

- Western Mediterranean marine ecosystem, Annaba Bay (Algeria) // *Toxicon*. 2020. V. 180. P. 79–88.
- Hallegraeff G.M., Anderson D.M., Davidson K. et al. Fish-killing marine algal blooms: Causative organisms, ichthyotoxic mechanisms, impacts and mitigation. *Global HAB*. Paris: UNESCO-IOC/SCOR, 2023. 96 p. (IOC Manuals and Guides; No. 93). <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-1964>
- Han M., Lee H., Anderson D.M., Kim B. Paralytic shellfish toxin production by the dinoflagellate *Alexandrium pacificum* (Chinhae Bay, Korea) in axenic, nutrient-limited chemostat cultures and nutrient-enriched batch cultures // *Mar. Pollut. Bull.* 2016. V. 104. P. 34–43.
- He H., Chen F., Li H. et al. Effect of iron on growth, biochemical composition and paralytic shellfish poisoning toxins production of *Alexandrium tamarense* // *Harmful Algae*. 2010. V. 9. P. 98–104.
- Hii K.S., Lim P.T., Kon N.F. et al. Physiological and transcriptional responses to inorganic nutrition in a tropical Pacific strain of *Alexandrium minutum*: implications for the saxitoxin genes and toxin production // *Harmful Algae*. 2016. V. 56. P. 9–21.
- Hsieh D.P.H., Wang D., Chang G.H. Laboratory bioproduction of paralytic shellfish toxins in dinoflagellates // *Adv. Appl. Microbiol.* 2001. V. 49. P. 85–110.
- Hu H., Shi Y., Cong W. Improvement in growth and toxin production of *Alexandrium tamarense* by two-step culture method // *J. Appl. Phycol.* 2006. V. 18. P. 119–126.
- John E.H., Flynn K.G. Growth dynamics and toxicity of *Alexandrium fundyense* (Dinophyceae): the effect of changing N: P supply ratios on internal toxin and nutrient levels // *Eur. J. Phycol.* 2000. V. 35. P. 11–23.
- Kellmann R., Mihali T.K., Jeon Y.J. et al. Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 2008. V. 74. P. 4044–4053.
- Kim H., Park H., Wang H. et al. Low temperature and cold stress significantly increase saxitoxins (STXs) and expression of STX biosynthesis genes *sxtA4* and *sxtG* in the dinoflagellate *Alexandrium catenella* // *Mar. Drugs*. 2021. V. 19. № 6. Art. ID291.
- Kim H.S., Park H., Wang H. et al. Saxitoxins-producing potential of the marine dinoflagellate *Alexandrium affine* and its environmental implications revealed by toxins and transcriptome profiling // *Mar. Environ. Res.* 2023. V. 185. № 2. Art. ID105874.
- Kremp A., Rengefors K., Montresor M. Species specific encystment patterns in three Baltic cold-water dinoflagellates: the role of multiple cues in resting cyst formation // *Limnol. Oceanogr.* 2009. V. 54. № 4. P. 1125–1138.
- Kremp A., Godhe A., Egardt J. et al. Intraspecific variability in the response of bloom-forming marine microalgae to changed climate conditions // *Ecol. Evol.* 2012. V. 2. № 6. P. 1195–1207.
- Laabir M., Collos Y., Masseret E. et al. Influence of environmental factors on the paralytic shellfish toxin content and profile of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) isolated from the Mediterranean Sea // *Mar. Drugs*. 2013. V. 11. № 5. P. 1583–1601.
- Lefebvre K.A., Bill B., Erickson A. et al. Characterization of dissolved and particulate saxitoxin levels in both field and cultured *Alexandrium* samples from Sequim Bay, WA // *Mar. Drugs*. 2008. V. 6. P. 103–116.
- Leong S.C.Y., Murata A., Nagashima Y., Taguchi S. Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in response to different nitrogen sources and concentrations // *Toxicon*. 2004. V. 43. P. 407–415.
- Li F., Guo L., Chen J. et al. CO₂ enrichment and excess nitrogen supply synergistically increase toxicity of marine dinoflagellate *Alexandrium minutum* // *J. Hazard. Mater.* 2024. V. 463. Art. ID132869. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132869>
- Lim P.T., Leaw C.P., Sato S. et al. Effect of salinity on growth and toxin production of *Alexandrium minutum* isolated from a shrimp culture pond in northern Vietnam // *J. Appl. Phycol.* 2011. V. 23. P. 857–864.
- Lindström J., Grebner W., Rigby K., Selander E. Effects of predator lipids on dinoflagellate defence mechanisms — increased bioluminescence capacity // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. Art. ID13104.
- Lippemeier S., Frampton D.M., Blackburn S.I. et al. Influence of phosphorus limitation on toxicity and photosynthesis of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) monitored by in-line detection of variable chlorophyll fluorescence // *J. Phycol.* 2003. V. 39. P. 320–331.
- Longo S., Sibat M., Darius H.T. et al. Effects of pH and nutrients (nitrogen) on growth and toxin profile of the ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus polynesiensis* (Dinophyceae) // *Toxins (Basel)*. 2020. V. 12. Art. ID767.
- López-Rosales L., García-Camacho F., Sánchez-Mirón A. et al. Pilot-scale bubble column photobioreactor culture of a marine dinoflagellate microalga illuminated with light emission diodes // *Bioresour. Technol.* 2016. V. 216. P. 845–855.
- McLachlan J.L., Marr J.C., Conlon-Keily A., Adamson A. Effects of nitrogen concentration and cold temperature on DSP-toxin concentrations in the dinoflagellate

- Prorocentrum lima* (Prorocentrales, Dinophyceae) // Nat. Toxins. 1994. V. 2. P. 263–270.
- Mogilnikova T.A., Galanin D.A., Nikulina T.V. Potentially toxic algal species, seasonal variability of their quantitative indices and phycotoxin contents in Japanese scallop *Mizuhopecten yessoensis* (Jay, 1857) // Life-supporting Asia-Pacific marine ecosystems, biodiversity and their functioning. Beijing: Science Press. 2017. P. 113–118.
- Montuori E., De Luca D., Penna A. et al. *Alexandrium* spp.: from toxicity to potential biotechnological benefits // Mar. Drugs. 2023. V. 22. Art. ID31. <https://doi.org/10.3390/md22010031>
- Navarro J.M., Muñoz M.G., Contreras A.M. Temperature as a factor regulating growth and toxin content in the dinoflagellate *Alexandrium catenella* // Harmful Algae. 2006. V. 5. P. 762–769.
- Oliveira C.Y.B., Oliveira C.D.L., Müller M.N. et al. A scientometric overview of global dinoflagellate research // Publications. 2020. Art. ID50.
- Oshima Y., Bolch C.J., Hallegraeff G.M. Toxin composition of resting cysts of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) // Toxicon. 1992. V. 30. № 12. P. 1539–1544.
- Parkhill J.-P., Cembella A.D. Effects of salinity, light and inorganic nitrogen on growth and toxigenicity of the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from northeastern Canada // J. Plankton Res. 1999. V. 21. P. 939–955.
- Pinna A., Pezzolesi L., Pistocchi R. et al. Modelling the stoichiometric regulation of C-rich toxins in marine dinoflagellates // PLoS One. 2015. V. 10. № 9. Art. ID e0139046.
- Praptiwi R.A. Optimisation of high value metabolite production from benthic marine dinoflagellate *Prorocentrum lima* / PhD thesis. United Kingdom: Robert Gordon University, 2014. 236 p.
- Rhodes L., Selwood A., McNabb P. et al. Trace metal effects on the production of biotoxins by microalgae // Afr. J. Mar. Sci. 2006. V. 28. P. 393–397.
- Salas R., Murphy E., Doohan R. et al. Production of the dinoflagellate *Amphidoma languida* in a large scale photobioreactor and structure elucidation of its main metabolite AZA-39 // Harmful Algae. 2023. V. 127. Art. ID102471. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2023.102471>
- Saldivia P., Hernández M., Isla A. et al. Proteomic and toxicological analysis of the response of dinoflagellate *Alexandrium catenella* to changes in NaNO₃ concentration // Harmful Algae. 2023. V. 125. Art. ID102428. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2023.102428>
- Schulze P.S.C., Barreira L.A., Pereira H.G.C. et al. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production // Trends Biotechnol. 2014. V. 32. P. 422–430.
- Selander E., Thor P., Toth G., Pavia H. Copepods induce paralytic shellfish toxin production in marine dinoflagellates // Proc. R. Soc. B: Biol. Sci. 2006. V. 273. № 1594. P. 1673–1680.
- Shimada H., Motylkova I.V., Mogilnikova T.A. et al. Toxin profile of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) from Hokkaido, northern Japan and southern Sakhalin, eastern Russia // Plankton Benthos Res. 2011. V. 6. № 1. P. 35–41.
- Stüken A., Orr R.J.S., Kellmann R. et al. Discovery of nuclear-encoded genes for the neurotoxin saxitoxin in dinoflagellates // PLoS One. 2011. V. 6. Art. ID e20096.
- Tarazona-Janampa U.I., Cembella A.D., Pelayo-Zárate M.C. et al. Associated bacteria and their effects on growth and toxigenicity of the dinoflagellate *Prorocentrum lima* species complex from epibenthic substrates along Mexican coasts // Front. Mar. Sci. 2020. V. 7. Art. ID569.
- Tatters A.O., Flewelling L.J., Fu F. et al. High CO₂ promotes the production of paralytic shellfish poisoning toxins by *Alexandrium catenella* from Southern California waters // Harmful Algae. 2013. V. 30. P. 37–43.
- Tobin E.D., Wallace C.L., Crumpton C. et al. Environmental drivers of paralytic shellfish toxin producing *Alexandrium catenella* blooms in a fjord system of northern Southeast Alaska // Harmful Algae. 2019. V. 88. Art. ID 101659.
- Tse S.P., Lee F.W., Mak D.Y. et al. Production of paralytic shellfish toxins (PSTs) in toxic *Alexandrium catenella* is intertwined with photosynthesis and energy production // Toxins (Basel). 2020. V. 12. Art. ID477.
- Tsuchiya S., Cho Y., Konoki K. et al. Synthesis and identification of proposed biosynthetic intermediates of saxitoxin in the cyanobacterium *Anabaena circinalis* (TA04) and the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Axat-2) // Org. Biomol. Chem. 2014. V. 12. P. 3016–3020.
- Uribe P., Espejo R.T. Effect of associated bacteria on the growth and toxicity of *Alexandrium catenella* // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69. № 1. P. 659–662.
- Van de Waal D.B., Smith V.H., Declerck S.A.J. et al. Stoichiometric regulation of phytoplankton toxins // Ecol. Lett. 2014. V. 17. P. 736–742.
- Vanucci S., Guerrini F., Milandri A., Pistocchi R. Effects of different levels of N- and P-deficiency on cell yield, okadaic acid, DTX-1, protein and carbohydrate dynamics in the benthic dinoflagellate *Prorocentrum lima* // Harmful Algae. 2010. V. 9. № 6. P. 590–599.
- Varkitzi I., Pagou K., Granéli E. et al. Unbalanced N:P ratios and nutrient stress controlling growth and toxin

- production of the harmful dinoflagellate *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge // Harmful Algae. 2010. V. 9. № 3. P. 304–311.
- Vico P., Aubriot L., Martigani F. et al. Influence of nitrogen availability on the expression of genes involved in the biosynthesis of saxitoxin and analogs in *Cylindrospermopsis raciborskii* // Harmful Algae. 2016. V. 56. P. 37–43.
- Vingiani G.M., Stalberga D., De Luca P. et al. De novo transcriptome of the non-saxitoxin producing *Alexandrium tamutum* reveals new insights on harmful dinoflagellates // Mar. Drugs. 2020. V. 18. Art. ID386.
- Wang D., Hsieh D.P. Dynamics of C₂ toxin and chlorophyll-*a* formation in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* during large scale cultivation // Toxicon. 2001. V. 39. № 10. P. 1533–1536.
- Wang H., Kim H., Ki J.-S. Transcriptome survey, molecular identification, and expression analysis of stress-responsive genes in the toxic dinoflagellate *Alexandrium pacificum* under algicidal agents and metal stresses // J. Appl. Phycol. 2021. V. 33. P. 3139–3151.
- Wang H., Kim H., Park H., Ki J.-S. Temperature influences the content and biosynthesis gene expression of saxitoxins (STXs) in the toxigenic dinoflagellate *Alexandrium pacificum* // Sci. Total Environ. 2022. V. 802. Art. ID149801.
- Wohlrab S., Iversen M.H., John U. A molecular and co-evolutionary context for grazer induced toxin production in *Alexandrium tamarense* // PLoS One. 2010. V. 5. № 11. Art. ID e15039.
- Xu J., Ho A.Y.T., He L. et al. Effects of inorganic and organic nitrogen and phosphorus on the growth and toxicity of two *Alexandrium* species from Hong Kong // Harmful Algae. 2012. V. 16. P. 89–97.
- Zhang H., Campbell D.A., Sturm N.R., Lin S. Dinoflagellate spliced leader RNA genes display a variety of sequences and genomic arrangements // Mol. Biol. Evol. 2009. V. 26. P. 1757–1771.
- Zhang Y., Zhang S.F., Lin L., Wang D.Z. Comparative transcriptome analysis of a toxin-producing dinoflagellate *Alexandrium catenella* and its non-toxic mutant // Mar. Drugs. 2014. V. 12. P. 5698–5718.

Phycotoxins of Dinoflagellates

© 2025 T. V. Laurinavichene^a, P. A. Starygina^a, T. Yu. Orlova^b, A. A. Tsygankov^a, *

^aInstitute of Fundamental Problems of Biology, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142292 Russia

^bZhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041 Russia

*e-mail: ttt-00@mail.ru

Dinoflagellates are a large group of protists with diverse morphogenetic forms and nutrition modes (phototrophy, mixotrophy, and heterotrophy). Outbreaks of dinoflagellate growth, known as harmful algal blooms (HABs), can cause deaths of fish, birds, mammals, and other animals, and pose a significant danger to human health due to the consumption of seafood contaminated with phycotoxins. Therefore, identifying the factors that influence the synthesis of phycotoxins is important for predicting possible HAB events. Increased synthesis of phycotoxins by dinoflagellates under laboratory conditions is necessary for their use in biotechnological applications. This review summarizes the literature data on the main physicochemical and biotic factors influencing the synthesis of toxins by marine photosynthetic dinoflagellates, particularly saxitoxin and its derivatives. The primary focus is on the abiotic factors such as concentrations of nitrogen, phosphorus, micronutrients, temperature, illumination, salinity, pH, and carbon dioxide. Several biotic factors are also considered. A significant effect of copepodamides, which are low-molecular-weight compounds synthesized by copepods, on the phycotoxin synthesis is noted. The genetic basis for phycotoxin synthesis is discussed using saxitoxin as an example.

Keywords: dinoflagellates, saxitoxin and its derivatives, phycotoxin synthesis, nitrogen deficiency, phosphorus deficiency, temperature, salinity, light intensity, CO₂