

УДК [591.133.2+582.263] 546.817; 661.847

А.І. ГОРДА, К.В. КОСТЮК, В.В. ГРУБІНКО

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка,
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна

БІОСИНТЕЗ ВУГЛЕВОДІВ, БІЛКІВ І ЛІПІДІВ У *Chlorella vulgaris* Beijer. ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Досліджували регуляцію синтезу вуглеводів, білків і ліпідів в одноклітинній водорості *Chlorella vulgaris* Beijer. іонами цинку ($5,0 \text{ мг/дм}^3$) і свинцю ($0,5 \text{ мг/дм}^3$). Включення ^{14}C -бікарбонату у вуглеводи збільшувалося на 3% при дії іонів цинку (3 доби) і свинцю (1 доба), після чого інтенсивність процесу зменшувалася. Включення ^{14}C -ацетату у вуглеводи близьке до включення ^{14}C -бікарбонату, за винятком дії іонів цинку (7 діб) і свинцю (3 доби). Збільшення включення ^{14}C -бікарбонату в білки на 5-10% щодо контролю спостерігали при дії іонів цинку (3 доби) і свинцю (7 діб). Включення ^{14}C -субстратів в ліпіди збільшувалося під впливом обох іонів. При дії іонів цинку і свинцю у хлорели має місце загальна тенденція до накопичення триацилгліцеролів, диацилгліцеролів, неетерифікованих жирних кислот, які виконують адаптивну роль в захисті клітин водоростей від токсикантів, та зменшення вмісту в клітинах фосфоліпідів.

Ключові слова: *Chlorella vulgaris* Beijer, важкі метали, вуглеводи, білки, ліпіди, включення ^{14}C -ацетату та ^{14}C -бікарбонату

Сполуки важких металів, як відомо, є забруднювачами природних водойм і значно впливають на функціонування водних організмів і екосистем [1, 6]. Загалом, метали, що містяться в природних водах у вигляді різних сполук, за походженням умовно поділяються на дві групи: природні (Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, V і ін.) і антропогенні (Hg, Cd, Cr, Pb) [19]. Метали першої групи вважають біологічно активними, оскільки при їх нестачі порушується нормальна життєдіяльність організмів. Проте, їх надлишок у воді і організмах є токсичним для гідробіонтів, включно водоростей [12, 27].

Оскільки гідрофіти є початковою ланкою трофічного ланцюга у водних екосистемах і у зв'язку з цим визначають їх біорізноманіття та продуктивність, а також беруть участь в процесі самоочищення і вторинного забруднення водойм, то регуляторний вплив металів на них є як фактором кількісного і якісного розвитку, так і деградації фітогідробіоти [2, 3, 8].

З іншого боку водорості, особливо одноклітинні, розглядаються як перспективні об'єкти сучасних біотехнологій, включно для отримання кормових, фармацевтичних препаратів та біопалива у зв'язку з можливістю регуляторного моделювання в їх клітинах спрямованого біосинтезу певних сполук [11].

Адаптація водоростей до іонів металів – багатоступеневий процес, який клітини намагаються контролювати на структурному та функціональному рівнях, комплекс регуляторних механізмів, що складається з послідовної системи мембранних та постмембранних процесів. Останні ініціюють адаптивні перебудови метаболічних систем – зміну спрямованості та швидкості окремих метаболічних шляхів, насамперед вуглеводного, азотистого та ліпідного метаболізму [2, 7, 8].

У зв'язку з зазначеним метою дослідження було з'ясування можливості регуляції синтезу вуглеводів, білків і ліпідів у *Chlorella vulgaris* Beijer. іонами цинку та свинцю з метою оптимізації отримання біотехнологічно корисних продуктів у аквакультури.

Матеріал і методи досліджень

Як об'єкт дослідження використана одноклітинна зелена водорість *Chlorella vulgaris* Beijer., культуру якої вирощували у скляних колбах (250 мл) на мінеральному середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема при температурі $20 \pm 1^\circ\text{C}$ і освітленні 2500 лк в люменостаті [20]. В експериментальних умовах до культури додавали водні розчини ZnSO_4 і $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ з розрахунку на кількість іонів: $\text{Zn}^{2+} - 5 \text{ мг/дм}^3$ і $\text{Pb}^{2+} - 0,5 \text{ мг/дм}^3$, що відповідає 5-ти санітарно-токсичним ГДК [9, 26]. Період інкубації культури водорості з токсичними речовинами складав 1, 3 і 7 діб. Контролем були рослини, які культивували у середовищі без додавання токсикантів.

Після культивування суспензію водорості інкубували з 200 кБк [^{14}C]-ацетату натрію або з 20 кБк [^{14}C]-бікарбонату натрію ($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$) при температурі 20°C і освітленні 2500 лк протягом 90 хв. Після зупинення реакції трихлороцетовою кислотою, центрифугування екстракту при 2 500 об/хв. Протягом 20 хв., екстрагували вуглеводи та ліпіди, а також осаджували білки.

Вуглеводи відділяли розчином 75%-го етанолу, після чого центрифугували, двічі промивали, осаджували центрифугуванням [28] і висушували.

Білки осаджували 5%-им розчином трихлорооцетової кислоти на водяній бані при 100°C. Після центрифугування осад розчинили в етанолі і знову центрифугували. Осад промивали сумішню етанол:діетиловий ефір (3:1 – за об'ємом) і підсушували ефіром. Білки солюбілізували 5М КОН при 70°C протягом 24 год., нейтралізували 0,5М НСІ і висушували [5].

Екстракцію, розділення і кількісне визначення ліпідів здійснювали за методикою Нічалса (Nichols) в модифікації [33]. Ліпіди екстрагували розчином Фолча при кімнатній температурі, після чого фільтрували через знежирений фільтр. Для видалення неліпідних водорозчинних домішок екстракт промивали 1% розчином КСІ і залишали для розділення фаз. Верхню водно-метанольну фазу обережно збирали, а нижню промивали сумішню (хлороформ:метанол:р-н NaCl – 3:48:47 – за об'ємом). Екстракт висушували до постійної маси, визначали вміст загальних ліпідів ваговим методом, і, розчинивши висушені ліпіди в хлороформі, використовували їх для тонкошарової хроматографії [14].

Нейтральні ліпіди розділяли методом тонкошарової хроматографії скляних пластинок в шарі силікагелю, попередньо активованого пропусканням розчину для розділення ліпідів та прогрітого при 105°C, в системі гексан–діетиловий ефір–льодяна оцетова кислота (70:30:1– за об'ємом). Хроматограми проявляли в парах кристалічного йоду. Кількість неполярних ліпідів визначали біхроматним методом на спектрофотометрі при довжині хвилі 615 нм. Вміст фосfolіпідів після їх мінералізації при 180°C визначали за кількістю неорганічного фосфору методом Васьковського [14, 39].

Радіоактивність зразків вимірювали на сцинтиляційному лічильнику LS-100C «Beckman» (США) і виражали в імп/хв.

Одержані експериментальні дані опрацьовані методами варіаційної статистики [17].

Результати досліджень та їх обговорення

Як видно з даних, наведених у табл. 1, збільшення вмісту вуглеводів майже на 3% за рахунок включення бікарбонату має місце за дії на хлорелу іонів цинку протягом трьох діб та іонів свинцю впродовж однієї доби, після чого інтенсивність процесу зменшувалася до контрольних значень або нижче них. Порівнюючи включення ¹⁴C-субстратів у вуглеводи, відзначимо, що включення ¹⁴C-ацетату при дії іонів цинку на 3 добу, свинцю на 1 і 7 доби близькі до включень ¹⁴C-бікарбонату, за винятком цинку на 7 та свинцю на 3 доби їх дії.

Співвідношення показників інтенсивності включення ¹⁴C- ацетату і ¹⁴C-бікарбонату у вуглеводи показує, що при дії цинку воно зменшується на 3 добу дії металу, а на 7 добу збільшується порівняно з контролем, а при дії іонів свинцю – дещо збільшується на 3 добу і близьке до контрольних значень на 7 добу дії металу. Відмічаємо включення в вуглеводи бікарбонату за короткотривалої дії іонів, а ацетату – за тривалості дії до 7 діб, що свідчить про активацію фотосинтетичних процесів у відповідь на первинний стрес, та можливу участь ацетату у синтезі адаптивних форм вуглеводів мембран клітин шляхом глюконеогенезу за довготривалої інтоксикації [35]. Крім того, дослідження на різних видах гідрофітів показали, що, існує механізм зв'язування важких металів з участю вуглеводів, бо у морських макроводоростей було виявлено участь зв'язаних полісахаридів в акумуляції металів [13, 24].

Накопичення білків майже на 5–10% щодо контролю за рахунок включення бікарбонату мало місце за дії іонів цинку та свинцю (3 доби). При продовженні терміну культивування водоростей з металами до 7 діб вміст білків стабілізувався на рівні, близькому до контрольних значень. За дії іонів свинцю (1 та 7 діб) включення ¹⁴C-ацетату в білки близьке до показників включення ¹⁴C-бікарбонату, крім дії іонів цинку (3 та 7 діб) та свинцю (3 доби.) Співвідношення інтенсивності включення ¹⁴C- ацетату і ¹⁴C-бікарбонату в білки при дії іонів цинку зменшується порівняно з контролем, а при дії іонів свинцю – зменшується на 3 добу і близьке з контрольними значеннями на 1 і 7 доби дії металу. Отже, включення мічених попередників в білки спостерігається, починаючи з 3-ої доби дії металів, що може бути пов'язано з синтезом адаптивних білків мембран клітин, який надалі знижується. Встановлено, що накопичення важких металів в організмі рослинних клітин (насамперед у вакуолях) стимулює біосинтез металотіонеїнів та інших «стресових» білків, які відіграють істотну роль у зв'язуванні іонів металів [18]. Зниження вмісту білків за довготривалої дії металів пов'язуємо з їх виведенням з метаболізму шляхом зв'язування у комплекси, що, як відомо, є однією з форм інактивації іонів важких металів рослинами [23]. Аналогічний ефект виявили за впливу надлишку Cu²⁺ на діатомову водорість *Skeletonema costatum*, в клітинах якої внутрішньовакуолярні гранули містили велику кількість міді, зв'язаної з сірко- та азотомісними

компонентами білків [32]. Припускають також, що білки здатні зв'язувати метали лише за дії низьких їх концентрацій чи при повільному підвищенні концентрацій з часом. При порушенні цих умов допускається можливість втрати білками здатності акумулювати метали і підвищення ролі фракцій зв'язаних полісахаридів, які мають більш високу сорбційну смність щодо іонів важких металів [25], що узгоджується з фактом активного включення ¹⁴C-бікарбонату за дії іонів цинку і свинцю на 3 добу дії.

Очевидно, що роль досліджених попередників у утворенні білків є меншою, ніж їх включення у вуглеводи. Проте зміна вмісту обох класів досліджених сполук свідчить як про їх безпосередню участь у детоксикації іонів металів, так і роль у адаптивних структурно-функціональних перебудовах у клітинах, насамперед, у мембранах [30].

Таблиця 1

Включення ¹⁴C-субстратів у вуглеводи та білки у *Chlorella vulgaris* Beijer. за дії іонів металів (M±m, n=3)

Умови культивування водорості	Включення ¹⁴ C-субстратів у вуглеводи		Співвідношення включення: ¹⁴ C-ацетат / ¹⁴ C-бікарбонат	Включення ¹⁴ C-субстратів у білки		Співвідношення включення: ¹⁴ C-ацетат / ¹⁴ C-бікарбонат
	Включення ¹⁴ C-цетату, імпл./хв.	Включення ¹⁴ C-бікарбонату, імпл./хв.		Включення ¹⁴ C-цетату, імпл./хв.	Включення ¹⁴ C-бікарбонату, імпл./хв.	
Контроль	56,07±4,68	58,07±1,20	0,97	60,00±1,45	57,33±2,17	1,05
Zn ²⁺ , 3 доби	56,00±2,47***	59,87±1,35***	0,94	54,87±0,87*	63,80±1,40*	0,86
Zn ²⁺ , 7 діб	58,13±4,99***	52,53±1,45**	1,11	56,07±0,60***	58,47±2,14***	0,96
Pb ²⁺ , 1 доба	52,60±3,92***	59,67±2,93***	0,88	59,00±0,10***	54,93±3,49***	1,07
Pb ²⁺ , 3 доби	58,27±3,35***	53,33±2,16***	1,09	52,13±2,02*	60,20±3,06***	0,87
Pb ²⁺ , 7 діб	57,40±0,31***	59,47±3,05***	0,97	60,40±0,99***	57,40±2,03***	1,05

Примітки: p щодо контролю: 0,02 – *; 0,05 – **; 0,2 – ***

Щодо включення ¹⁴C-ацетату і ¹⁴C-бікарбонату в ліпіди, то при дії цинку воно збільшується, а при дії іонів свинцю – зменшується протягом всього періоду дії металів. Так, включення ¹⁴C-ацетату у ліпіди при дії іонів Zn²⁺ на 3 і 7 доби збільшується у 1,2 рази порівняно з контрольними показниками. При дії іонів Pb²⁺ включення ¹⁴C-ацетату у ліпіди також зростає на 1 добу у 1,3 рази, на 3 і 7 доби в 1,2 рази порівняно з контролем. Включення ¹⁴C-бікарбонату у ліпіди при дії Zn²⁺ і Pb²⁺ порівняно з контрольними значеннями має тенденцію до зменшення, починаючи з 3 доби.

Отже, для цинку з збільшенням тривалості дії іонів металу спостерігається збільшення включення у ліпіди ¹⁴C-ацетату і зменшення включення ¹⁴C-бікарбонату. Для свинцю максимальне включення ¹⁴C-ацетату спостерігається на 1 добу дії металу, а мінімальне включення ¹⁴C-бікарбонату на 1 добу дії іонів металу, після чого інтенсивність процесу дещо підвищується, проте все ж залишається нижчим, ніж в контролі.

Співвідношення інтенсивності включення ¹⁴C-ацетату і ¹⁴C-бікарбонату при дії іонів цинку та свинцю збільшується порівняно з контролем.

Відомо, що ліпіди є одним з основних структурних компонентів рослинних організмів, які відіграють важливу роль в організації їх мембран [22]. Крім того, вони відіграють важливу роль у забезпеченні клітин енергетичними ресурсами [16]. Щодо водоростей, то вони здатні накопичувати важкі метали в кількостях, що в десятки тисяч разів перевищують їх вміст у воді, насамперед завдяки ліпідам. Наприклад, показано, що у морських мікродоростей 19% Pb і 15% Zn зв'язують клітинні ліпіди, а білкова фракція клітин зв'язує 27% Cu і до 19% Pb [38]. Тому вміст ліпідів у водоростей за дії іонів важких металів може зростати значно. Крім того, ВМ є відомим стрес-фактором, що викликає структурно-функційні перебудови мембран [30]. Клітини відповідають на ці впливи зміною не тільки кількісного, а й якісного їх складу. Тому вивчення різноякісності ліпідів

мембран як визначальних структур взаємодії між зовнішнім середовищем і внутрішньоклітинною відповіддю водоростей може прояснити питання їх резистентності до важких металів.

Таблиця 2

Включення ¹⁴C- субстратів у ліпиди в *Chlorella vulgaris* Beijer. за дії іонів металів (M±m, n=3)

Умови культивування водорості	Включення ¹⁴ C- субстратів в ліпиди		Співвідношення включення ¹⁴ C-ацетат / ¹⁴ C-бікарбонат
	Включення ¹⁴ C-ацетату, імп./хв.	Включення ¹⁴ C-бікарбонату, імп./хв.	
Контроль	51,45±2,95	64,80±5,19	0,79
Zn ²⁺ , 3 доби	59,30±7,10****	61,07±2,07****	0,97
Zn ²⁺ , 7 діб	60,13±3,77***	65,73±1,88****	0,91
Pb ²⁺ , 1 доба	65,93±2,50*	57,40±2,32****	1,15
Pb ²⁺ , 3 доби	61,47±1,58**	61,20±3,01****	1,00
Pb ²⁺ , 7 діб	62,80±1,91*	58,53±4,02****	1,07

Примітки: p щодо контролю: 0,002 – *; 0,01 – **; 0,05 – ***; 0,2 – ****.

При стресовій дії металів загальний вміст ліпідів у клітинах хлорели суттєво зростає. Так, цинк стимулює синтез ліпідів вже на 1 добу дії у 1,5 рази, а на 7 добу їх вміст є знову близьким до контрольних значень. При дії свинцю також спостерігається зростання вмісту ліпідів.

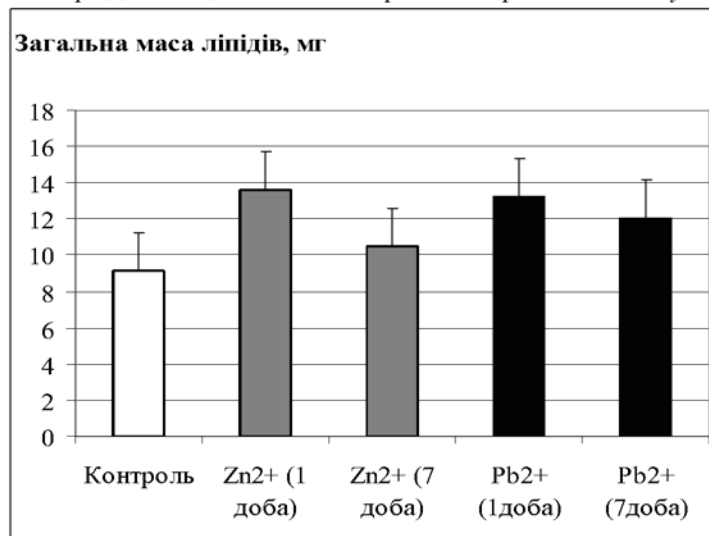


Рис. 1. Загальна маса ліпідів у клітинах *Chlorella vulgaris* Beijer за дії іонів Zn²⁺ (5ГДК) і Pb²⁺ (5ГДК), (M±m, n=3)

Щодо фракційного складу ліпідів, то вміст триацилгліцеролів (ТАГ) за дії іонів цинку збільшується і максимальне його значення спостерігається на 7 добу дії металу (рис. 2). Іони свинцю стимулюють накопичення ТАГ на 1 і 7 доби дії у 1,8 і 1,4 рази відповідно. Максимальне накопичення диацилгліцеролів (ДАГ) при дії іонів Zn²⁺ відбувається на 1 добу в 1,5 рази, а Pb²⁺ – у 2,7 рази на 1 добу дії. При продовженні тривалості дії обох металів вміст ДАГ зменшується на 63-70%. Кількість фосfolіпідів (ФЛ) при дії: Zn²⁺ збільшується на 1 добу в 1,5 рази, зменшується на 50% на 7 добу інкубації з металом; Pb²⁺ – зменшується на 24% на 1 добу дії і є близьким до контрольних значень на 7 добу дії. При дії іонів цинку спостерігається збільшення вмісту неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) на 1 і 7 доби у 1,5 та 1,9 рази порівняно з контрольними показниками, а при дії іонів свинцю в 1,6 і 1,8 рази на 1 та 7 доби відповідно.

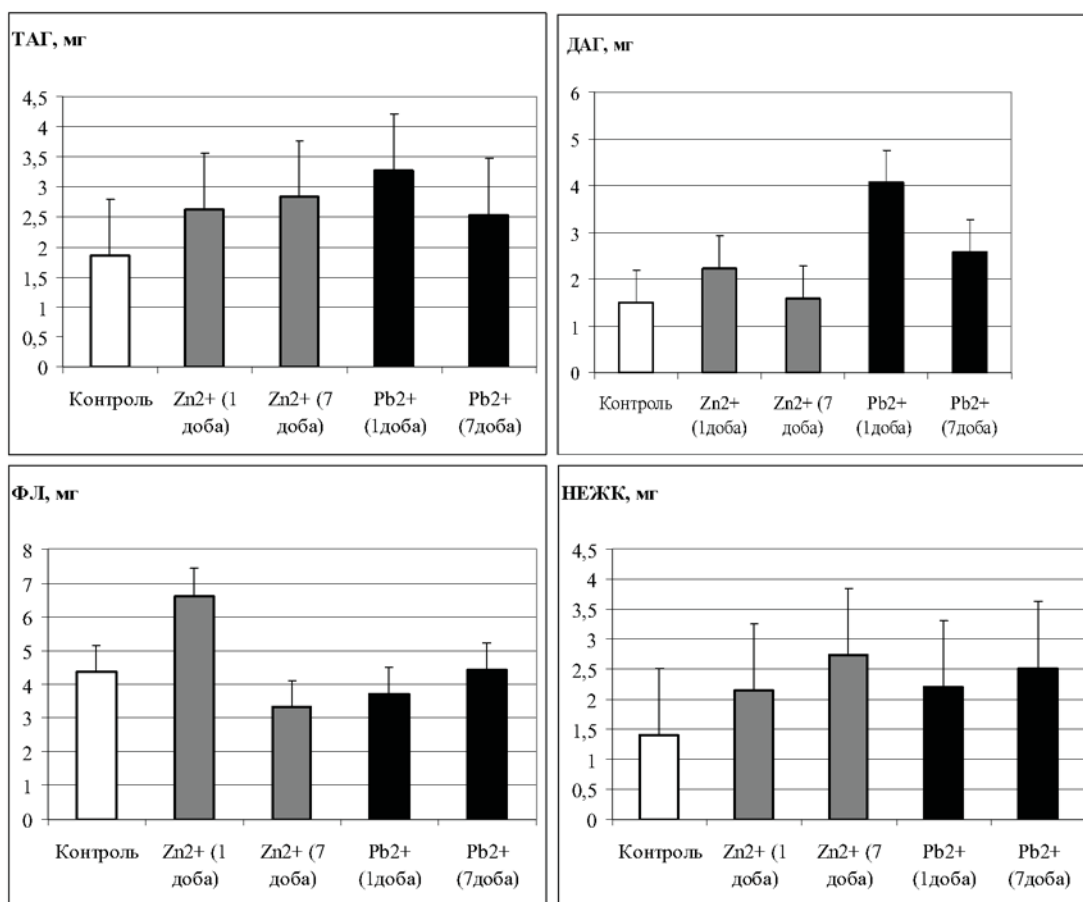


Рис. 2. Вміст триацилгліцеролів (ТАГ), диацилгліцеролів (ДАГ), фосфоліпідів (ФЛ) і неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) у клітинах *Chlorella vulgaris* Beijer за дії іонів Zn²⁺ (5ГДК) і Pb²⁺ (5ГДК), (M±m, n=3)

Отримані дані щодо динаміки вмісту окремих класів ліпідів підтверджуються показниками їх співвідношення (табл. 3).

Таблиця 3

Співвідношення вмісту окремих класів ліпідів (%) у *Chlorella vulgaris* Beijer за дії важких металів (M±m, n=3)

	Умови культивування		ТАГ:ДАГ:ФЛ:НЕЖК, %
	тривалість дії, діб	ГДК	
Контроль	7	0	22:16:47:15
Zn ²⁺	1	5	18:16:50:16
	7	5	26:16:33:25
Pb ²⁺	1	5	24:31:28:17
	7	5	21:21:37:21

При дії іонів цинку кількість ТАГ на 1 добу зменшується, а на 7 добу збільшується на 18%. Вміст ДАГ у хлорели залишається незмінним, оскільки вони є продуктами розщеплення триацилгліцеролів. На першу добу дії кількість ФЛ збільшується на 8%, а на 7 – різко зменшується на 30%. Частка НЕЖК збільшується на 6% і 67% відповідно на 1 та 7 доби. При дії іонів свинцю частка ТАГ на 1 добу збільшується майже на 10%, а на 7 добу – зменшується на 5% порівняно з контролем. Вміст ДАГ зростає, що є закономірним унаслідок розщеплення ТАГ. Відносний вміст фосфоліпідів має тенденцію до зменшення протягом всього періоду дії металу. Зазначимо, що посилення синтезу ТАГ призводить до ущільнення мембран, що є захисним механізмом на токсичну дію металів, а зменшення його вмісту супроводжується іншими перебудовами мембрани – зміною в'язкості і текучості [10, 15, 34, 35]. Підвищення вмісту ТАГ – один з факторів стабілізації

мембран, які в фізіологічних умовах є попередником утворення ДАГ і НЕЖК [31]. Накопичення ТАГ є типовою відповіддю водоростей на дію токсикантів, що співвідноситься з літературними даними, згідно яких рівень триацилгліцеролів в клітинах хлорели при стресі може сягати 80% їх сухої біомаси [4]. Можна стверджувати про участь ТАГ в стабілізації мембран клітин водоростей при токсичній дії, оскільки збільшення їх вмісту співвідноситься з ущільненням і зменшенням текучості мембран [10].

Як відомо, стресова дія на мембранні ліпіди активує ліпази і фосфоліпази [21]. Тому разом з зростанням рівня ТАГ у водорості збільшується вміст ДАГ та, відповідно, НЕЖК.

Одними з найбільш функціональнозначимих компонентів мембрани є фосфоліпіди, що впливають не тільки на її текучість, але й формують мікросередовище для мембранних ферментів, іонні канали, а також регулюють зв'язок клітин з середовищем їх існування [29]. Зменшення вмісту фосфоліпідів розглядаємо як механізм їх участі у зв'язуванні металів і виведенні з метаболічного поля, оскільки вони володіють високою сорбційною здатністю щодо важких металів [37].

Вміст НЕЖК є показником або посиленого розщеплення омилених ліпідів, або їх синтезу, що залежить від спрямованості метаболізму [15]. В цілому зростання вмісту НЕЖК у хлорели при дії обох металів є наслідком розщеплення фосфоліпідів, вміст яких, як зазначалося, за інтоксикації іонами цинку та свинцю, зменшується.

Висновки

Отже, при дії іонів цинку і свинцю у зазначених концентраціях у хлорели спостерігається загальна тенденція до накопичення ТАГ, ДАГ і НЕЖК, які, очевидно, мають адаптивне значення для захисту клітин водоростей від токсикантів, що співвідноситься з даними інших дослідників [36], якими показано, що ТАГ і ФЛ стабілізують структурно-функціональний стан мембран клітин водоростей у відповідь на дію несприятливого фактору.

Клітини хлорели реагують на дію важких металів підвищенням синтезу основних адаптивних ліпідів (ТАГ, ДАГ), а також, частково, вуглеводів та білків, що перешкоджають проникненню металів в клітини або сприяють їх зв'язуванню (білки, вуглеводи, фосфоліпіди). Наші висновки співвідносяться з твердженнями в [34], якими показано, що водні рослини за дії металів активно переструктуровують метаболізм з метою підтримання клітинних структур, які забезпечують адаптивне функціонування пігментного апарату і фотосинтезу.

1. Арсан О.М. Состояние и перспективы развития водной экотоксикологии / О.М. Арсан // Гидробиол. журн. – 2007. – Т. 43, № 6. – С. 50–64.
2. Боднар О.І. Адаптивні властивості водоростей за дії іонів металів : автореф. дис. ... канд. біол. наук / 03.00.17 "Гідробиологія" / О.І. Боднар. – Київ, 2008. – 22 с.
3. Величко И.М. Экологическая физиология зеленых нитчатых водорослей / И.М. Величко. – К.: Наук. думка, 1982. – 198 с.
4. Верещагин А.Г. Биохимия триглицеридов / А.Г. Верещагин. – М.: Наука, 1972. – 307 с.
5. Вовк С. И. Исследование синтеза белков в тканях сельскохозяйственных животных (методические рекомендации) / Вовк С.И., Янович В.Г. – Львов: УНИИ физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, 1988. – 20 с.
6. Гандзюра В.П. Продуктивність біосистем за токсичного забруднення середовища важкими металами / В.П. Гандзюра. – К.: ВГЛ "Обрії", 2002. – 248 с.
7. Гандзюра В.П. Концепція шкодочинності в екології / Гандзюра В.П., Грубінко В.В. – Київ-Тернопіль: Вид-во ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2008. – 144 с.
8. Горбатюк Л.О. Деякі аспекти токсичної дії важких металів на гідрофіти / Л.О. Горбатюк // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. — 2006. — № 1. – С. 112 – 122.
9. Давыдова С.Л. Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века: Учебн. пос. / Давыдова С.Л., В.И. Тагасов. – М., 2002. – 140 с.
10. Дятловицкая Э.В. Липиды как биоэффекторы. Введение / Дятловицкая Э.В., Безуглов В.В. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып. 1. – С. 3–5.
11. Золотарьова О.К. Перспективи використання мікрководоростей у біотехнології / О.К. Золотарьова, Є.І. Шнюкова, О.О. Сиваш, Н.Ф. Михайленко – К.: Альтерпрес, 2008. – 234 с.
12. Золотухина Е.Ю. Влияние ионов цинка и меди на фотосинтез и дыхание морских водорослей / Е.Ю. Золотухина, Е.Е. Гавриленко, К.С. Бурдин // Физиол. раст. – 1987. – Т.34, вып. 2. – С. 266–275.
13. Золотухина Е.Ю. Распределение тяжелых металлов в тканях филлоидов бурой водоросли *Sargassum pallidum* (Turn.) С. Ag. / Е.Ю. Золотухина, И.В. Тропин, Р.В. Кононенко, К.С. Бурдин // Вестн. Моск.ун-та. Сер.16. – 1991. – № 4. – С. 41–44.
14. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. – М.: Мир, 1975. – 322 с.

15. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран / Е.М. Крепс. – Л.: Наука, 1981. – 144 с.
16. Курчий Б.А. Что регулируют регуляторы роста? / Б.А. Курчий. – К.: Логос, 1998. – 202 с.
17. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
18. Лебедева А.Ф./ Устойчивость цианобактерий и микроводорослей к действию тяжелых металлов: роль металлсвязывающих белков / А.Ф. Лебедева, Я.В. Саванина, Е.Л. Барский, М.В. Гусев // Вестн. Моск. ун-та. Сер.16. – 1998. – №2. – С.42–49.
19. Линник П.Н. Формы существования, основные закономерности превращений и биологическая роль соединений тяжелых металлов в природных водах / П.Н. Линник, Б.И. Набиванец, Л.П. Брагинский // Водн. ресурсы. – 1987. – № 5. – С. 84–96.
20. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Ред. А.В. Топачевский. – К.: Наук. думка, 1975. – 247 с.
21. Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке / Д. Мецлер.– М.: Мир, 1980. – Т.2. – 609 с.
22. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: Підручник / М.М. Мусієнко. – К.: Либідь, 2005. – 808 с.
23. Растения в экстремальных условиях минерального питания: Эколого-физиологические исследования / Под ред. М.Я. Школьника, Н.В. Алексеевой-Поповой – Л.: Наука (Ленинградское отделение), 1983. – 176 с.
24. Тропин И.В. Таксономические и экологические закономерности распределения металлов в талломах морских водорослей (Chlorophyta) / И.В. Тропин //Океанология. – 1996. – Т. 36, № 3. – С. 424–430.
25. Тропин И.В. Динамика аккумуляции тяжелых металлов у бурых и красных макроводорослей / И.В.Тропин, Е.Ю. Золотухина // Физиол. раст. – 1994. – Т. 41, № 2. – С. 305–312.
26. Тяжелые металлы как фактор экологической опасности: Метод. указ. / Сост. Ю.А. Холопов. – Самара: СамГАПС, 2003. – 16 с.
27. Филенко О.Ф. Некоторые универсальные закономерности действия химических агентов на водные организмы: автореф. дисс. ... докт. биол. наук : 03.00.16 “Гидробиология”/ О.Ф. Филенко. – М.: МГУ, 1990. – 36 с.
28. Филиппович Ю.Б. Практикум по общей биохимии / Ю. Б. Филиппович, Т.А. Егорова, Г.А. Севастьянова. – М.: Просвещение, 1975. – 318 с.
29. Abbas C.A. The relationship between growth temperature, fatty acid composition and the physical state and fluidity of membrane lipids in *Yersinia enterocolitica* / Abbas C.A., Card G.L. // Biochim. Biophys. Acta. – 1980. – Vol. 602, N 3 – P. 469–476.
30. Beney L. MINIREVIEW: influence of the fluidity of the membrane on the response of microorganisms to environmental stress. / Beney L., Gervais P. // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2001. – Vol. 57, N 1-2. – P. 34–42.
31. Lewis R.N.A.H. Surface charge markedly attenuates the nonlamellar phase-forming properties of lipid bilayer membranes: calorimetric and ³¹P-nuclear magnetic resonance studies of mixtures of cationic, anionic, and zwitterionic lipids / Lewis R.N.A.H., McElhaney R.N. // Biophys. J. – 2000. – Vol. 79, N3. – P. 1455–1464.
32. Nassiri Y., Ginsburger-Vogel T., Wery J., Mansot J.-L. Toxic action of cadmium and copper on the diatom *Skeletonema costatum* // Biol. Cell. – 1995. – Vol. 84, N 3. – P. 221.
33. Nichols B. W. Separation of lipid of Photosynthetic Tissues: Improvement in Analysis by Thin-Layer Chromatography / B.W. Nichols // Biochim. Biophys. Acta. – 1963. – Vol. 70, №1. – P. 417–422.
34. Rozentsvet O.A. Effect of heavy metals upon lipid metabolism in *P. Perfoliatus* / O.A. Rozentsvet, E.S. Bosenko, I.A. Guschina / 16th Intern. Plant Lipid symposium. Budapest, Hungary, 1-4 June 2004: Oral and poster presentations.– Budapest, 2004. – P.202–204.
35. Schmid K.M. Lipid metabolism in plants / Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes / Schmid K.M., Ohlrogge J.B. / Ed. D.E. Vance, J.E. Vance. – Amsterdam: Elsevier, 2002 – P. 93–126.
36. Seddon J.M. Polymorphism of Lipid-Water Systems / Seddon J.M., Templer R.H. / Handbook of Biological Physics. Vol. 1; ed. R. Lipowsky, E. Sackmann. – Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1995. – Ch. 3. – P.97–160.
37. Wang L. Contribution of Cell Outer Membrane and Inner Membrane to Cu²⁺ Adsorption by Cell Envelope of *Pseudomonas putida* 5-x / L. Wang, Q. Zhou, H. Chua // J. Environ. Science and Health. Part A. – 2004. – Vol. 39, N 8. – P. 2071 – 2080.
38. Whiston A.I. Removal of heavy metals from wastewater by marine microalgae / A.I. Whiston, P.J. McAuley, V.J. Smith // J. Exp. Bot. – 1995. – Vol. 46, N 1. – P. 1–3.
39. Vaskovsky V.E. A universal reagent for phospholipids analysis / V.E. Vaskovsky, E.V. Kastetsky, I.M. Vasedin // J. Chromatogr. – 1985. – Vol. 114, N 1. – P. 129–141.

А.И. Горда, К.В. Костюк, В.В. Грубинко

БИОСИНТЕЗ УГЛЕВОДОВ, БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER. ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка, Украина
 Исследовали регуляцию синтеза углеводов, белков и липидов у одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer. ионами цинка (5,0 мг/дм³) и свинца (0,5 мг/дм³). Включение ¹⁴С-бикарбоната в углеводы увеличивалось на 3% при действии ионов цинка (3 сут.) и свинца (1 сут.), после чего интенсивность процесса уменьшалась. Включение ¹⁴С-ацетата в углеводы близкое к включению ¹⁴С-бикарбоната, за исключением действия ионов цинка (7 сут.) и свинца (3 сут.). Увеличение

включення ^{14}C -бикарбоната в белки на 5-10% против контролю наблюдали при действии ионов цинка (3 сут.) и свинца (7 сут.). Для ионов свинца включение ^{14}C -субстратов в белки в течение 1 и 7 сут. практически одинаково. Включение ^{14}C -субстратов в липиды увеличивалось под влиянием обеих ионов. Соотношение интенсивности включения ^{14}C -субстратов в липиды под влиянием тяжелых металлов сдвинулось в сторону триацилглицеролов. Содержание диацилглицеролов возросло на к 63–70%. Содержание фосфолипидов под влиянием ионов цинка уменьшается на 50% в течение 7 суток. Под влиянием ионов цинка наблюдали увеличение содержания неэтерифицированных жирных кислот на протяжении 1 и 7 сут. в 1,5 и 1,9 раза соответственно, свинца – в 1,6 (1 сут.) и 1,8 раза (7 сут.).

При действии ионов цинка и свинца у хлореллы наблюдается общая тенденция к накоплению триацилглицеролов, диацилглицеролов, неэтерифицированных жирных кислот, которые выполняют адаптивную роль в защите клеток водорослей от токсикантов.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris* Beijer, тяжелые металлы, углеводы, белки, липиды, включение ^{14}C -бикарбоната и ^{14}C -ацетата

A.I. Gorda, K.V Kostyuk, V.V. Grubinko

Ternopil National Volodymir Hnatiuk Pedagogical University, Ukraine

BIOSYNTHESIS OF CARBOHYDRATES, PROTEINS AND LIPIDS IN *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER. FOR THE ACTIONS OF HEAVY METAL IONS

We investigated the possibility of regulation of synthesis of carbohydrates, proteins and lipids in the unicellular algae *Chlorella vulgaris* Beijer. compounds of heavy metals (zinc – 5,0 mg/dm³, lead – 0,5 mg/dm³). Inclusion ^{14}C -bicarbonate in carbohydrates increases by 3% for zinc ions (3 day) and lead (1 day), after which the intensity process is reduced to control values. Inclusion ^{14}C -acetate close to inclusions ^{14}C -bicarbonate in carbohydrates, except action ions of zinc (7 day) and lead (3 day). Observed accumulation of proteins by 5-10% against control by including ^{14}C -bicarbonate ions for zinc and lead (3 day) and 7 day protein content stabilized at a level close to control. For actions lead ions at 1 and 7 days of inclusion in ^{14}C -substrate proteins are nearly equal. Inclusion ^{14}C -substrate in lipids by increasing the influence of zinc and lead ions act – reduced throughout the period of the metals. Intensity ratio of inclusion ^{14}C -substrate lipids increased under the influence of heavy metals, fractional composition of lipids, the content is increasing at triacylglycerol ions zinc and lead. Exposed metal within 7 days diacylglycerol content decreases by 63–70%. The content of phospholipids under the action of zinc ions increases by a day of action and reduced by 50% for 7 days. The action of zinc ions observed increase free fatty acid content of 1 and 7 days in 1,5 and 1,9 times respectively, while lead ions also increased in 1,6 (1 day) and 1,8 times (7 days).

Key words: *Chlorella vulgaris* of Beijer, heavy metals, carbohydrates, proteins, lipids, inclusion ^{14}C -bicarbonate and ^{14}C -acetate.

УДК 556.[012+16.047+168]

В.В. ГРЕБІНЬ, Ю.О. ЧОРНОМОРЕЦЬ

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка
пр-т Акад. Глушкова, 2а, МСП – 680, Київ, Україна

ВНЕСОК ОКРЕМИХ ВИДІВ ЖИВЛЕННЯ У ВНУТРІШНЬОРІЧНИЙ РОЗПОДІЛ СТОКУ РІЧОК БАСЕЙНУ ДНІПРА

Наведені результати досліджень сучасних змін структури видів живлення річок басейну Дніпра, що відбуваються внаслідок кліматичних змін. Здійснено аналіз впливу вказаних змін на внутрішньорічний розподіл стоку річок басейну та форму їх гідрографів.

Ключові слова: кліматичні зміни, живлення річок, внутрішньорічний розподіл стоку

Для гідрології найбільший інтерес становлять не стільки масштаби сучасного глобального потепління, скільки його наслідки для зміни зонального перерозподілу випаровування та, особливо, атмосферних опадів. У зв'язку з цим до найбільш актуальних завдань, що постають перед