

П.М. Линник¹, В.А. Жежеря¹, Р.П. Линник²

¹Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Украина

РАСТВОРЕННЫЕ ФОРМЫ МЕТАЛЛОВ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДАХ:
БИОДОСТУПНОСТЬ И ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

С экологических позиций обоснована актуальность исследований соотношения потенциально токсичных и малотоксичных форм металлов, химической природы комплексных соединений и их молекулярно-массового распределения в поверхностных водах. Отмечено, что результаты таких исследований – важное основание для выяснения путей миграции металлов и их распределения среди абиотических компонентов водных экосистем.

Ключевые слова: металлы, формы нахождения, поверхностные воды

P.M. Linnik¹, V.A. Zhezherya¹, R.P. Linnik²

¹Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

²Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine

METAL DISSOLVED FORMS IN SURFACE WATER: BIOAVAILABILITY AND POTENTIAL TOXICITY

The actuality of investigating the relationship of potentially toxic and low-toxic forms of metals, chemical nature of complex compounds and their molecular weight distribution in the surface waters is substantiated with environmental positions. It is noted that the results of such research are an important basis to determine of metal migration ways and their distribution among the abiotic components of aquatic ecosystems.

Keywords: metals, forms of occurrence, surface water

УДК 577.126+582.263

А.І. ЛУЦІВ

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

**ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ БІОСИНТЕЗУ ЛІПІДІВ
У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ. ЗА ДІЇ ДИЗЕЛЬНОГО ПАЛИВА**

Досліджували вплив дизельного палива (0,1 мг/дм³; 0,5 і 1 мг/дм³) на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, гліцерол-3-фосфатдегідрогенази, 2-оксоглутаратдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, цитохромоксидази у *Chlorella vulgaris* Beij. Дизельне паливо стимулює біосинтез ліпідів протягом 1, 3 і 7 доби дії. Обговорюється активність ферментів, а відтак і реакцій, процесів та циклів, особливості їх функціонування за умови поверхнево-активної дії дизпалива. Припускаємо, що субстратами для біосинтезу ліпідів є гліцерол-3-фосфат, утворений в результаті фосфорилування гліцерину, а не глюкози, та ацил-КоА – утвореного з вуглецевих ланцюгів амінокислот.

Ключові слова: Chlorella vulgaris Beij., дизельне паливо, ліпіди, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа, 2-оксоглутаратдігідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа, цитохромоксидаза

Одним з найпоказовіших критеріїв успішності формування стратегій виживання за дії стресових факторів, включно токсичних, є ефективність функціонування метаболічних систем. В умовах культивування важливий аспект належить продукційно-енергетичним параметрам живих систем [1], а саме успішності біосинтезу біотехнологічно-корисних речовин, стійкості водоростей до несприятливих факторів, енергетичний статус клітини [9]. Враховуючи надзвичайно велику кількість ферментів, які беруть участь у метаболічних процесах,

виокремлюють рівень активності ключових ферментів пентозофосфатного шляху – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (Гл-6-ФДГ), гліцеролфосфатного човникового механізму – гліцерол-3-фосфатдегідрогеназу (Г-3-ФДГ), циклу трикарбонових кислот – 2-оксoglутаратдегідрогеназу (2-ОГДГ), сукцинатдегідрогеназу (СДГ), електронно-транспортного ланцюга – цитохромоксидазу (ЦО), активність яких обумовлює рівень функціонування решти важливих реакцій, процесів та циклів [2].

Метою цього дослідження було з'ясувати джерело субстратів для біосинтезу ліпідів за допомогою аналізу активності енергетичних ферментів за дії дизельного палива.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом досліджень була одноклітинна зелена водорість *Chlorella vulgaris* Beij., культуру якої вирощували при температурі $20 \pm 1^\circ\text{C}$ і освітленні 2500 лк в люменостаті у скляних колбах (250 см^3) на мінеральному середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема [6]. В експериментальних умовах до культури водорості додавали дизельне паливо в кількості 0,1; 0,5 і 1 мг/дм^3 , що згідно з показниками шкідливості речовин становить 10, 50 і 100 ГДК. Період інкубації культури водорості з дизельним паливом (ДП) становив 1, 3 і 7 діб. Контрольними були рослини, які росли у поживному середовищі без додавання дизпалива.

Загальний вміст ліпідів у клітинах визначали після їх екстрагуванням хлороформ-метаноловою сумішшю у відношенні 2:1 за методом Фолча [8]. При цьому до однієї масової частки тканини додавали 20 часток екстрагуючої суміші і залишали на 12 год. для екстракції. Неліпідні домішки з екстракту видаляли відмиванням 1% розчином КСІ [5]. Кількість загальних ліпідів визначали ваговим методом після відгонки екстрагуючої суміші [3].

Досліджували активність Гл-6-ФДГ (КФ 1.1.1.49), Г-3-ФДГ(КФ 1.1.1.8), 2-ОГДГ(КФ 1.2.4.2), СДГ(КФ 1.3.99.1) [5], ЦО (КФ 1.9.3.1) згідно з прописами [10].

Одержані експериментальні дані опрацьовані методами варіаційної статистики [4].

Результати досліджень та їх обговорення

У клітинах хлорели, культуру якої культивували в середовищі із дизельним паливом, загальний вміст ліпідів зростає за дії усіх досліджених концентрацій: в кінці 1 доби дії їх вміст збільшується у 1,9 і 2,3 рази, 3 доби – у 1,6 і 3,2 рази, 7 доби – у 1,4 і 2,5 рази при дії концентрацій 50 і 100 ГДК ДП відповідно (рис. 1).

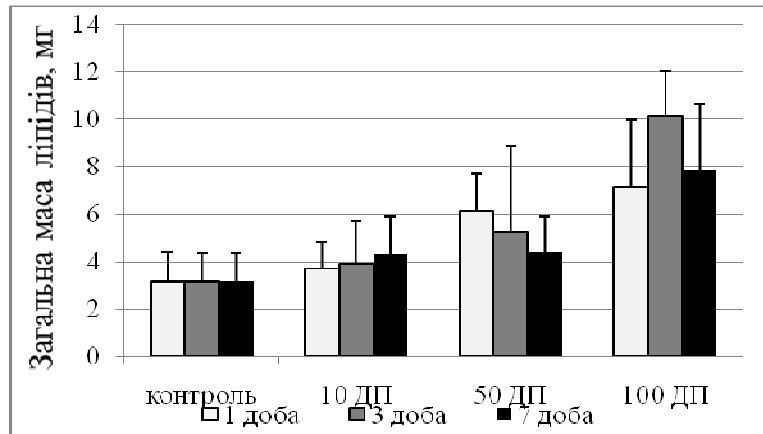


Рис. 1. Загальна маса ліпідів у *Chlorella vulgaris* Beij. за дії ДП

У зв'язку з отриманими даними представляло інтерес вивчення активності ферментів, які безпосередньо чи опосередковано беруть участь у біосинтезі ліпідів.

У результаті дослідження виявлено, що активність ключового ферменту пентозофосфатного шляху Гл-6-ФДГ пригнічується за дії досліджених концентрацій протягом усього терміну культивування водорості з дизельним паливом, за винятком 7 доби при 50 і 100 ГДК ДП. Основна роль пентозофосфатного шляху полягає в утворенні НАДФН, необхідного для підтримання активності глутатіонредуктази, для постачання гідрогену для синтезу жирних

кислот, нуклеотидів, а також захищає ненасичені жирні кислоти клітинних мембран від аномального впливу кисню [2]. Результатом зниження активності Гл-6-ФДГ є пригнічення розщеплення глюкози гліколітичним шляхом, кількість якої всередині клітини є недостатньою для використання її у наступних реакціях перетворення і синтезу ліпідів.

Таблиця 1

Активність ферментів енергетичного метаболізму у *Ch. vulgaris* Beij. за дії ДП ($M \pm m$, $n = 3$)

Активність	Тривалість дії ДП, діб	Контроль	Дія ДП (ГДК)		
			10	50	100
Гл-6-ФДГ, мкмоль НАДН/мг білка*хв.	1	25,53±12,53	23,24±2,39	9,19±1,13	11,81±2,02
	3		23,53±5,46	9,46±3,01	7,20±1,42
	7		11,59±1,97	26,13±8,84	28,33±5,68
Г-3-ФДГ, мкмоль НАДН/мг білка*хв.	1	12,79±4,63	3,77±2,61	2,66±0,11	7,19±0,46
	3		6,38±3,88	14,93±1,96	10,77±3,47
	7		8,70±0,56	6,86±0,60	4,85±0,67
α-КГДГ, мкмоль НАДН/мг білка*хв.	1	71,01±3,60	162,58±38,93	148,59±52,76	71,84±11,02
	3		68,87±2,57	45,37±2,60	83,31±8,57
	7		73,22±6,98	130,75±7,03	136,51±18,41
СДГ, нмоль сукцинату/1мг білка*хв.	1	250,24±149,19	84,98±2,62	139,31±53,73	162,10±85,97
	3		254,39±141,73	227,58±57,29	114,56±32,7
	7		66,09±11,08	105,54±41,7	139,31±17,65
ЦО, мкг індофенолу синього/ мг білка*хв.	1	72 179,15± 22 222,35	83 919,05± 5 115,41	137 916,67± 34 766,08	108 437,49± 32 220,98
	3		82 355,07± 17 656,38	95 123,31± 14 217,09	65 132,94± 15 733,36
	7		102 267,27± 15 942,40	160 648,15± 34 700,61	136 354,17± 32 556,37

Активність Гл-6-ФДГ співвідноситься із активністю НАД-залежного ферменту Г-3-ФДГ, що за дії досліджених концентрацій дизельного палива в основному зменшується. Найнижче значення активності цього ферменту спостерігається на 1 добу дії дизпалива при концентраціях 10 і 50 ГДК, також незначне підвищення активності – при 50 ГДК на 3-ю добу дії токсиканта. Г-3-ФДГ активність на 7-у добу дії пригнічується із збільшенням концентрації ДП. У зв'язку з виявленим можна припустити, що попередником біосинтезу ліпідів в умовах культивування водорості з дизпаливом, є гліцерол-3-фосфат, утворений шляхом фосфорилування гліцерину, а не у результаті гліколізу [2].

Активність 2-ОГДГ на 1 добу дії зростає при концентрації 10 і 50 ГДК, а при концентрації ДП 100 ГДК зменшується. На 3 добу дії дизельного палива при концентрації 10 і 50 ГДК зменшується на 3% і 36% порівняно з контрольними показниками, а при концентрації 100 ГДК зростає на 17%. Підвищена активність ферменту спостерігається на 7 добу дії при концентраціях 10, 50 і 100 ГДК на 3%, 84% і 92% відповідно. Із збільшенням терміну культивування активність ферменту зростає при високій концентрації дизпалива. Оскільки α-КГДГ – це фермент циклу трикарбонових кислот, то субстратом для синтезу ліпідів є ацетил-КоА [2], утворений в результаті перетворення вуглецевих ланцюгів амінокислот.

Для характеристики забезпечення енергією процесів метаболізму у клітині досліджували активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) та цитохромоксидази (ЦО). Протягом усього терміну дії дизпалива і спостерігається зниження активності СДГ, що свідчить про пригнічення токсикантом активності циклу Кребса, а тому і зниження утворення відновлених нікотинамідів і генерування енергії АТФ в ланцюгу окисного фосфорилування.

Активність ЦО за дії низьких концентрацій дизпалива (10 і 50 ГДК) стрімко зростає із збільшенням тривалості експозиції порівняно з контрольними показниками. За дії високих концентрацій дизпалива (100 ГДК) активність ферменту знижується порівняно з низькими

концентраціями. Відомо, що ЦО відіграє ключову роль в регуляції швидкості окисного фосфорилування, а також забезпечує енергією процеси проникнення, зв'язування і детоксикації [7], про що і свідчить зростання його активності протягом усього терміну культивування хлорели з дизпаливом.

Висновки

Між дослідженими ферментами проглядається тісний метаболічний зв'язок, оскільки продукти однієї реакції є субстратами для наступних послідовних перетворень, в тому числі біосинтезі ліпідів, а також продукування енергії АТФ. Встановлено, що за дії ДП відбувається пригнічення гліколізу і циклу трикарбонових кислот та зниження генерування енергії. Разом з тим, має місце формування нових шляхів підтримання енергетичного гомеостазу клітини, бо джерелами субстратів для біосинтезу ліпідів є гліцерол-3-фосфат, утворений в результаті фосфорилування гліцерину, а не гліколітичного окислення глюкози, а ацил-КоА – із окислених вуглецевих ланцюгів амінокислот. Спряжене функціонування досліджених ферментів спостерігається протягом усього періоду дії дизпалива.

1. Гандзюра В. П. Продуктивність біосистем за токсичного забруднення середовища важкими металами / В. П. Гандзюра. – К.: Вид-во “Обрій”, 2002. – 247 с.
2. Диксон М. Ферменты. В 3-х т. / М. Диксон, Э. Уэбб. – М.: Мир, 1982. – Т. 1. – 392 с.
3. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс. – М.: Мир, 1975. – 322 с.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
5. Методы биохимических исследований: Учеб. пособ. / Под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – 273 с.
6. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / под ред. А. В. Топачевского. – К.: Наукова думка, 1975. – 247 с.
7. Хоменчук В. О. Біохімічні особливості проникнення і розподілу деяких важких металів в організмі коропа лускатого : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. : спеціальність 03.00.04 – Біохімія / В. О. Хоменчук. – Львів, 2003. – 23 с.
8. Hokin L. E. Studies on the characterization of the sodium-potassium transport adenosine triphosphatase IX. On the role of phospholipids in the enzyme / L. E. Hokin, T. D. Hoxum // Arch. Biochemand Biophys. – 1992 – Vol. 151, № 2 – P. 58–61.
9. Schmid K. M. Lipid metabolism in plants / Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes / K. M. Schmid, J. B. Ohlrogge; ed. D. E. Vance, J. E. Vance. – Amsterdam: Elsevier, 2002 – P. 93–126.
10. Straus W. Colometric microdetermination of cytochrome oxidase / W. Straus // J. Biol. Chem. – 1954. – Vol. 207, № 2. – P. 733.

А.И. Луцив

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Украина

ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ БИОСИНТЕЗА ЛИПИДОВ В *CHLORELLA VULGARIS* WEIJ. ПРИ ДЕЙСТВИИ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА

Исследовали влияние дизельного топлива (0,1; 0,5 и 1 мг/дм³) на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, 2-оксоглутаратдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, цитохромоксидазы в *Chlorella vulgaris* Beij. Дизельное топливо стимулирует биосинтез липидов в течение 1, 3 и 7 суток действия. Обсуждается активность ферментов, а затем и реакций, процессов и циклов, особенности их функционирования при действии поверхностно-активного дизтоплива. Предполагаем, что субстратами для биосинтеза липидов могут быть глицерол-3-фосфат, образованный в результате фосфорилирования глицерола, а не глюкозы, и ацил-КоА – образованного из углеродистых цепей аминокислот.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris* Beij., дизельное топливо, липиды, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глицерол-3-фосфатдегидрогеназа, 2-оксоглутаратдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, цитохромоксидаза

A.I. Lutsiv

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

ENERGY SUPPLY OF BIOSYNTHESIS OF LIPIDS IN CHLORELLA VULGARIS BEIJ. FOR ACTION OF DIESEL FUEL

We investigated the effect of diesel fuel (0.1, 0.5 and 1 mg/dm³) on the enzyme activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase, glycerol-3-phosphate dehydrogenase, 2-oxoglutarate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase in *Chlorella vulgaris* Beij. Diesel fuel stimulates the biosynthesis of lipids during 1, 3 and 7 days of action. We discuss the enzyme activity and thus reactions, processes and cycles, features of their functioning for action of diesel fuel. We assume that the substrates for the biosynthesis of lipids are glycerol-3-phosphate formed by phosphorylation of glycerol, and not of glucose, and acyl-CoA – formed from carbon chains of amino acids.

Keywords: Chlorella vulgaris Beij., diesel fuel, lipids, glucose-6-phosphate dehydrogenase, glycerol-3-phosphate dehydrogenase, 2-oxoglutarate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase

УДК [504.4.054, 504.064.3]

В.А. ЛЯШЕНКО, Д.В. ЛУКАШОВ

Навчально-науковий центр «Інститут біології»
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна

**ОЦІНКА РІВНЯ ТОКСИЧНОГО ЗАБРУДНЕННЯ р. УДАЙ
У МЕЖАХ НПП «ПИРЯТИНСЬКИЙ» (ПОЛТАВСЬКА ОБЛ.)**

Проведено багаторічне дослідження динаміки рівня токсичного забруднення водних об'єктів у межах новоутвореної природоохоронної території. Використано методи біологічного тестування із застосуванням тваринних та рослинних тест-організмів. Відмічено поступове зниження рівня токсичності донних відкладів за час спостереження. Інтегральна оцінка рівня токсичності вказує на переважно «низький» рівень забруднення.

Ключові слова: біологічний моніторинг, екотоксикологія, біологічне тестування, природоохоронні території

Річка Удай є однією з небагатьох річок лівобережжя Дніпра, яка не зазнала гідромеліоративного спрямлення русла та значного розорювання заплави. Це робить екосистему даної річки унікальним об'єктом, що зберіг максимально природний вигляд. Саме з метою збереження заплавних ландшафтів півночі Полтавської обл. у 2010 р. було створено НПП «Пирятинський». Проте, природоохоронна функція створеного національного парку ускладнюється тим, що основна водозбірна площа р. Удай знаходиться на території Чернігівської обл. Збираючи забруднені сільськогосподарські стоки та комунально-промислові стоки м. Ічня та м. Прилуки, на кордоні з Полтавською обл. ця річка потрапляє у межі НПП «Пирятинський» вже забрудненою.

Метою дослідження було з'ясувати рівень токсичного забруднення р. Удай в межах НПП та оцінити самоочисну здатність річкової екосистеми.

Матеріал і методи досліджень

Для оцінки токсичного забруднення було обрано донні відклади, як основне депо хімічних речовин у водних екосистемах. Було обрано 4 станції спостереження, розташованих за течією р. Удай в межах НПП «Пирятинський» (рисунок). Відстань між точками складала: № 1 (с. Кроти) - № 2 (с. Леяки) - 10,5 км за течією річки; № 2 - № 3 (міст нижче м. Пирятин) – 21,5 км за течією річки; № 3 - № 4 (с. Повстин) – 13 км за течією річки. Таке розміщення станцій спостереження дозволяє оцінити як рівень надходження забруднення, так і процес самоочищення екосистеми.