

ISSN 0868-854 (Print)

ISSN 2413-5984 (Online). *Algologia*. 2017, 27(4): 415–425

doi: 10.15407/alg27.04.415

УДК 577:582.263:[546.763+546.23]

ЛУКАШИВ О.Я., БОДНАР О.И., ВИНЯРСКАЯ Г.Б., ГРУБИНКО В.В.

Тернопольский национальный пед. ун-т им. Владимира Гнатюка,
каф. общей биологии и методики обучения естественных дисциплин,
ул. М. Кривоноса, 2, Тернополь 46027, Украина

НАКОПЛЕНИЕ ХРОМА И СЕЛЕНА КЛЕТКАМИ И ЛИПИДАМИ *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ. ПРИ ИНКУБАЦИИ С ХЛОРИДОМ ХРОМА (III) И СЕЛЕНИТОМ НАТРИЯ

Исследована концентрационно-временная закономерность поглощения Cr^{3+} в присутствии Se^{4+} клетками микроводоросли *Chlorella vulgaris* и липидами. Накопление хрома носит флуктуационный характер и состоит из четырех этапов: адаптации клеток к новому фактору, связанной с мембранными механизмами формирования стресс-реакции клеток на присутствие в среде ионов хрома и селенита; активного накопления хрома, которое прекращается вследствие насыщения центров связывания ионов металла, прежде всего металлотионеиновыми протеинами; угнетения контролируемой фиксации металла в клетке в целом и липидах; этапа восстановления накопления, когда процесс становится хаотичным и неконтролируемым клеткой и завершается ее гибелью.

К л ю ч е в ы е с л о в а : селен, хром, липиды, *Chlorella vulgaris*, накопление, кинетика

Введение

Увеличение концентрации тяжелых металлов (ТМ) в водных экосистемах приводит к их чрезмерной аккумуляции гидробионтами и нарушению метаболизма (Rodrigues-Ariza et al., 1991; Grubinko et al., 2011). Отдельные металлы уже в небольших количествах проявляют высокую физиологическую активность (Villares et al., 2001). Некоторые из них, с одной стороны, в микроколичествах входят в состав ферментов водорослей и способны проявлять высокую биологическую активность, поэтому играют важную роль в процессах их жизнедеятельности, с другой — их избыток в среде токсичен для гидробионтов и ингибирует определенные звенья обмена веществ (Грубинко, 2012).

Общей характеристикой воздействия большинства тяжелых металлов на водоросли является их стимулирующее влияние при низких концентрациях и угнетение жизнедеятельности под воздействием высоких (Дмитриева и др., 2002; Cho et al., 1994; Garg et al., 1997). Поэтому водоросли в условиях загрязнения среды ионами металлов, независимо от их принадлежности к разным экологическим группам, могут накапливать микроэлементы в концентрациях, намного превыша-

ющих их содержание в воде (Jain et al., 1989). При этом увеличение концентрации свыше определенного уровня вызывает необратимые изменения в обмене веществ и приводит к гибели клеток (Grubinko et al., 2011, 2017).

Количество металлов, которое накапливается единицей биомассы или клеточных макромолекул микроводорослей, зависит от концентрации их ионов в среде, соотношения металл : биомасса (макромолекулы), продолжительности инкубации, pH, освещенности и т. д. (Algal..., 2008). При поглощении Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} одноклеточной зеленой водорослью *Ch. vulgaris* их накопление носит флуктуационный характер и имеет 4 этапа, происходит по смешанному типу ингибирования и определяется сродством с ионами металл-связывающих белков. Однако после насыщения их сайтов связывания процесс становится неконтролируемым (Grubinko et al., 2017).

Что касается хрома, то уровень поглощения его ионов значительно зависит от степени окисления элемента (Thompson et al., 2002). Степень поглощения ионов Cr(VI) *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. из культуральной среды значительно ниже, чем ионов Cr(III) (Мосулишвили и др., 2002).

Селен является эссенциальным микроэлементом для всех организмов, в т. ч. для микроводорослей, принимает непосредственное участие в метаболических, биофизических и энергетических процессах (Гмошинский и др., 2000), а его важнейшей функцией является участие в антиоксидантной защите (Araie, Shiraiwa, 2009).

Исследования показали (Вінярська, 2016), что при моделировании поглощения селенита натрия в концентрации 0,5 мг Se(IV)/дм³; 5; 10; 20 мг Se(IV)/дм³ отдельно и совместно с Co^{2+} (0,05 мг/дм³), Cu^{2+} (0,002 мг/дм³), Fe^{3+} (0,008 мг/дм³), Mn^{2+} (0,25 мг/дм³), Zn^{2+} (5,0 мг/дм³) в течение 1–7 сут в *Ch. vulgaris* накопление селена и ионов металлов при их совместном воздействии является синергичным. При этом активное накопление селена и металлов, обнаруженное в липидах, может быть использовано для получения биологически активной лечебно-профилактической субстанции (Боднар та ін., 2017) и получения из водорослей серии биологически активных соединений с терапевтическим эффектом: водорослевых липидов, селена и металлов (Bodnar et al., 2017).

Целью нашего исследования было выяснить особенности накопления ионов Cr(III) биомассой и липидами водоросли *Ch. vulgaris* при воздействии на них ионов Se(IV), а также установить такие концентрации микроэлементов, которые смогли бы активизировать обмен веществ в клетках водоросли и биосинтез липидов для получения биологически активных селен-металл-липидных комплексов.

Материалы и методы

Исследовали микропопуляцию альгологически чистой культуры *Ch. vulgaris* ССАР-211/11в, которую выращивали в условиях накопления

в среде Фитцджеральда в модификации Цендера и Горхема № 11 в люминостае в стеклянных колбах (250 дм³) при температуре 22–25 °С и освещении 2500 лк 16/8 ч (Топачевский, 1975).

В культуру водоросли добавляли водный раствор селенита натрия (Na₂SeO₃) с содержанием Se⁴⁺ 10 мг/дм³ и водный раствор CrCl₃·6H₂O с содержанием Cr³⁺ 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5 мг/дм³. Период инкубации культуры водоросли с указанными солями составил 1; 3; 6; 12; 24; 48; 72; 168; 240 ч. Контрольными были водоросли, которые росли в питательной среде без добавления этих солей.

Проникновение ионов в клетки водоросли прекращалось при 2,5 мМ ЭДТА. После центрифугирования суспензии водорослей (650 г) осадок промывали раствором питательной среды с последующим озолением в концентрированной азотной кислоте (Grubinko et al., 2011). Содержание металлов определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра Selmi C-115 M.

Липиды из биомассы экстрагировали хлороформ-метаноловой смесью по методу Фолча (Hokin, Nехum, 1992): к одной части влажной биомассы добавляли 20 частей экстрагирующей смеси и оставляли на 12 ч. Нелипидные примеси из экстракта удаляли 1%-ным раствором KCl. Общее количество липидов определяли весовым методом после выпаривания экстрагирующей смеси (Кейтс, 1975).

Содержание селена в липидном экстракте после его озоления азотной кислотой (HNO₃) в герметических бюксах при *t* 120 °С в течение 2 ч определяли спектрофотометрически с *o*'-фенилендиамином при длине волны 335 нм (Дедков, Мусатов, 2002), а хрома – после озоления липидного экстракта смесью азотной (HNO₃) и серной (H₂SO₄) кислот – с помощью хромазуrolа S при длине волны 556 нм (Яцків, Пацай, 2009).

Количество накопленных микроэлементов биомассой/липидами водоросли устанавливали по разнице между содержанием микроэлементов в контроле (без добавления солей селена и хрома) и в опытных вариантах и выражали в мг/г биомассы/липидов.

Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики в 5 повторностях. Статистическую обработку цифровых данных проводили с помощью программного обеспечения Excel (Microsoft, США) и STATISTICA 6.0 (Statsoft, США). При статистическом анализе данных применяли такие показатели вариационной статистики, как среднее арифметическое (*M*) и стандартная ошибка среднего значения (*m*).

Результаты и обсуждение

Хроматографический и масс-спектрометрический анализ селеносодержащих липидов *Ch. vulgaris* (Perales et al., 2006), выращенных при высоких концентрациях Se(IV), показал, что селен присутствует во всех фракциях липидов. Механизм включения элемента в их состав пока не выяснен, однако включенные в липиды селен и металлы связываются с

ними прочно, поскольку после выделения в их составе обнаруживается значительное количество данных микроэлементов. Возможно, это является результатом их включения в состав молекул липидов по месту двойной связи в ненасыщенных жирных кислотах или за счет межмолекулярного взаимодействия (Вінярська, 2016; Selenium, 2003).

Полученные данные показали, что поглощение хрома клетками *Ch. vulgaris* зависит от его концентрации и продолжительности воздействия. Так, активная аккумуляция хрома биомассой при концентрации 2,5 мг/дм³ в 2,7 раза выше, чем в контроле; при 5 мг/дм³ – в 5,3 раза выше и при 7,5 мг/дм³ – в 5,7 раза выше, чем в контроле в течение 3 ч инкубации. После этого в течение 12 ч наблюдается снижение аккумуляции металла с последующим восстановлением скорости поглощения до 168 ч (при концентрации хрома 2,5 мг/дм³ накопление микроэлемента увеличилось в 2,6 раза; при 5 мг/дм³ – в 4,7 раза и при 7,5 мг/дм³ – в 4 раза), затем наблюдается очередное снижение интенсивности накопления металла (рис. 1).

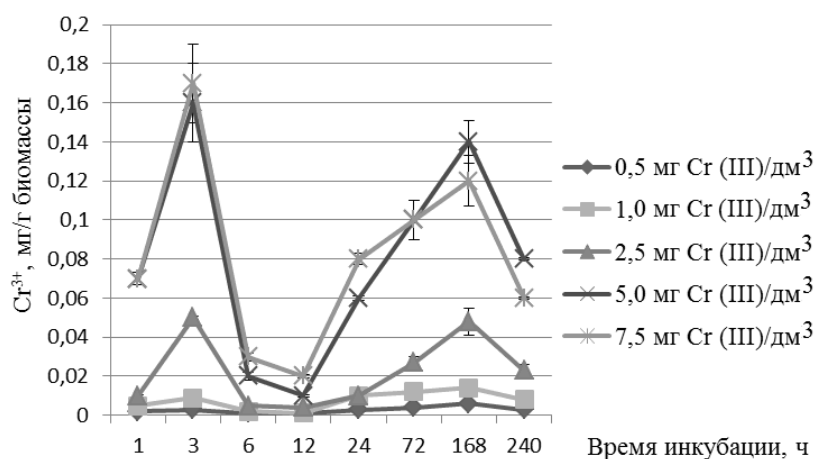


Рис. 1. Накопление Cr(III)/дм³ клетками *Chlorella vulgaris* ($M \pm m$, $n = 5$)

При действии 0,5 и 1 мг/дм³ ионов хрома его поглощение было аналогичным: в течение 3 ч происходит незначительное увеличение аккумуляции металла (на 10 и 30% соответственно), затем в течение 6 ч отмечается снижение интенсивности процесса поглощения, которое практически не изменяется при инкубации до 12 ч. От 24 до 168 ч культивирования накопление хрома *Ch. vulgaris* снова активизируется (на 20 и 46%), после чего опять снижается.

Биосорбция как начальный этап биологического концентрирования тяжелых металлов зависит, прежде всего, от площади поверхности клетки, стадии ее развития, состава, структуры и емкости клеточной оболочки, количества и активности групп, способных связывать металл, и от физиологического состояния клетки. С насыщением указанной

емкости процесс накопления лимитируется другими факторами, такими как способность проникновения металла через мембранные структуры, особенностью метаболизма клетки, скоростью экскреции металла и т. д., которые и определяют второй этап накопления (Brady et al., 1994). Характер, скорость и особенности второго этапа поступления тяжелых металлов обусловлены активностью физиологических и биохимических процессов взаимодействия абсорбированных веществ с ферментами и макромолекулами мембран, а также перемещением их внутрь клетки (Cho et al., 1994).

Исследование особенностей включения хрома в липиды *Ch. vulgaris* показало, что интенсивное накопление его наблюдается после 6 ч инкубации при действии всех исследуемых концентраций металла. Затем в течение 168 ч культивирования происходит активное накопление металла также при всех исследованных концентрациях (при 0,5 мг/дм³ аккумуляция хрома увеличивается в 1,18 раз; 1 мг/дм³ – в 1,94 раза, 2,5 мг/дм³ – в 5,2 раза; 5 мг/дм³ – в 12,2 раза; 7,5 мг/дм³ – в 9 раз по сравнению с контрольными значениями), после чего процесс поглощения хрома липидами водорослей снижается (рис. 2).

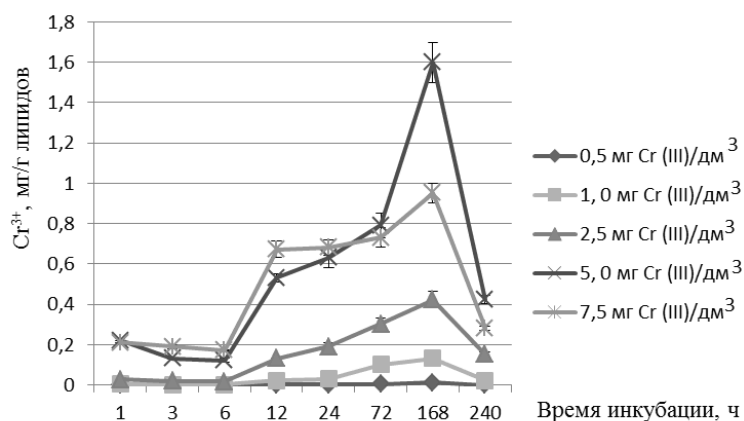


Рис. 2. Накопление Cr (III)/дм³ липидами *Chlorella vulgaris* ($M \pm m$, $n = 5$)

Следовательно, наибольшее накопление хрома биомассой клеток происходит на протяжении 3 ч при его концентрации 5 и 7,5 мг/дм³, однако это не совпадает с максимальными значениями включения Cr³⁺ в состав липидов, которое наблюдается в течение 168 ч культивирования при действии металла в концентрации 5,0 мг/дм³. В то же время при концентрации Cr³⁺ 5 мг/дм³ также наблюдается второй пик аккумуляции хрома биомассой водоросли.

Таким образом, установлено, что оптимальной для дальнейших исследований и перспективной для получения хромлипидной субстанции из биомассы *Ch. vulgaris* является концентрация хрома 5 мг/дм³.

Селен осуществляет в клетке важные метаболические функции, связанные прежде всего с антиоксидантной защитой. Особенности

кинетики, аккумуляции и включения его в состав клеток хлореллы при действии селенита натрия в различных концентрациях были изучены ранее (Cho et al., 1994). Что касается накопления селена клетками водоросли в присутствии ионов хрома в концентрации 5 мг/дм^3 , то его активная аккумуляция биомассой хлореллы начинается по истечении 12 ч культивирования и стремительно увеличивается, достигая максимума на протяжении 168 ч (в 3,2 раза превышает контроль), после чего интенсивность накопления селена уменьшается (рис. 3, А).

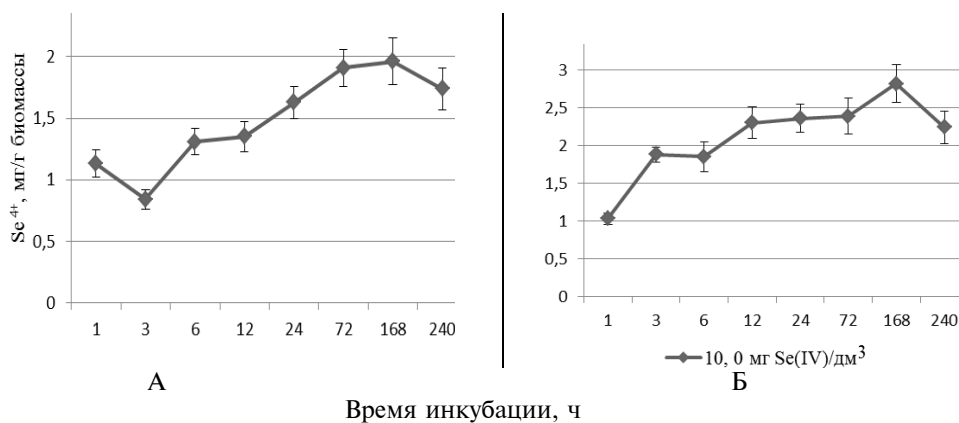


Рис. 3. Накопление селена клетками (А) и липидами (Б) при совместном культивировании *Chlorella vulgaris* с селенитом (5 мг/дм^3) и ионами хрома (5 мг/дм^3) ($M \pm m, n = 5$)

Результаты исследования аккумуляции селена липидами *Ch. vulgaris* показали, что в течение первых 3 ч культивирования происходит включение этого микроэлемента в состав последних. Далее процесс стабилизируется и после 6 ч наблюдается дальнейшее интенсивное накопление селена липидами водоросли до 168 ч (в 3,3 раза превышает контроль), после чего интенсивность процесса снижается (рис. 3, Б). Характер процесса аналогичен предыдущему, однако, как и в случае накопления хрома биомассой хлореллы, происходит задержка включения селена в липиды во времени по сравнению с его накоплением нативными клетками на протяжении 12 ч, что связано с транспортом и включением селена в липиды.

Общей закономерностью накопления хрома клетками и их липидами является выраженный флуктуационный характер. В целом, процесс накопления можно разделить на 4 этапа. Первый – адаптация клеток к новому фактору, связанная с мембранными механизмами формирования стресс-реакции клеток на присутствие солей хрома и селена. Ранее показано (Lutsiv, Grubinko, 2012b), что это может быть связано его структурно-функциональными преобразованиями в клеточной стенке водоросли, направленными на установление ею контроля за накоплением ионов – формированием системы «двойных концентрических мембран» и сопряженными с ними их липидными

перестройками (Костюк, Грубинко, 2010; Kostyuk, Grubinko, 2012; Grubinko et al., 2017). Второй этап – активное накопление (в течение 3 ч), который заканчивается насыщением центров связывания ионов металлов, прежде всего, металлотионеиновыми протеинами (Золотухина, Гавриленко, 1990). До завершения этого этапа клетки пытаются контролировать поступление ионов сначала на мембранном уровне, затем связыванием их избытка металлородственными метаболитами, особенно протеинами; металлы также могут активно аккумулироваться липидами и другими соединениями (Lutsiv, Grubinko, 2012a). Этим обусловлена задержка накопления хрома липидами, которое наблюдается после 6 ч инкубации хлореллы с ионами хрома (см. рис. 2). После этого наступает третий этап – снижение накопления металла в клетке (6–12 ч) и липидами в частности, которое переходит в четвертый этап – восстановление накопления (12–168 ч), которое имеет хаотичный и неконтролируемый клеткой характер, что приводит к ее гибели (168–240 ч) (Lutsiv, Grubinko, 2012b).

О механизме связывания токсических ионов можно судить по их химическому строению и поведению в растворах. Исследование адаптированной к высоким концентрациям цинка зеленой водоросли *Stigeoclonium tenue* (C. Agardh) Kütz. показало, что она производит большое количество родственных фитохелатинам пептидов, содержание которых в 22 раза выше в устойчивых к цинку водорослях (Pawlik-Skowronska, 2003). Для свинца известен механизм, который включает комбинацию ионного обмена и восстановительных реакций, сопровождающихся осаждением металла на клеточных стенках (Золотухина, Гавриленко, 1990; Raize et al., 2004), а для меди – ионный обмен и комплексообразование (Ahalya et al., 2003). В ионообменном процессе катионы тяжелых металлов, возможно, вытесняют Ca^{2+} , Mg^{2+} и другие элементы из оболочек клеток.

Выводы

Установленные особенности поглощения ионов Cr(III) в присутствии Se(IV) клетками и липидами хлореллы позволяют считать выявленные процессы физиологически верными, а включение этих элементов в клетки и липиды эффективным.

Открывается перспектива получения в условиях аквакультуры биологически активного селен-хром-липидного комплекса из *Chlorella vulgaris*. Так при введении в рацион животных в течение 14 сут селена в количестве 1,85 мкг, хрома – 1,1 мкг и липидов – 0,5 мг на 1 мл 1%-ной водно-крахмальной суспензии прооксидантные процессы подавляются, усиливается антиоксидантная защита организма (Лукашів та ін., 2016а). При этом повышается активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, активизируется глутаматдегидрогеназа как с НАДН, так и с НАДФН, изменяется соотношение их активности в 3 раза, что свидетельствует об активации в печени животных энергетического метаболизма с использованием аминокислот как

энергетических субстратов. Таким образом, селенхромлипидные препараты из хлореллы могут использоваться для коррекции патологических нарушений в организме (Лукашич та ін., 2016б).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Боднар О.І., Вінярська Г.Я., Грубінко В.В., Лихацький П.Г., Фіра Л.С. *Способ отримання біологічно активного селен-цинкліпідного комплексу з хлорели*. Пат. 114650, Україна. Зареєстр. 10.03.17. Бюл. № 5.
- Вінярська Г.Б. *Накопичення селену та його вплив на метаболізм у Chlorella vulgaris Beij. в культурі за дії селеніту натрію та йонів металів*. Дис. ... канд. біол. наук. Тернопіль, 2016.
- Гмошинский И.В., Мазо В.К., Тутельян В.А., Хотимченко С.А. Микроэлемент селен: роль в процессах жизнедеятельности (Обзорная информация). *Экол. моря*. 2000. 54: 5–20.
- Грубінко В.В. Особенности адаптации одноклеточных пресноводных водорослей к тяжелым металлам. В кн.: *Актуальные проблемы современной альгологии*. Тез. докл. Киев, 2012. С. 83–85.
- Дедков Ю.М., Мусатов А.В. *Селен: биологическая роль, химические свойства и методы определения*. М.: ВИНТИ, 2002. С. 19–23.
- Дмитриева А.Г., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. *Физиология растительных организмов и роль металлов*. М.: Изд-во МГУ, 2002. 160 с.
- Золотухина Е.Ю., Гавриленко Е.Е. Связывание меди, кадмия, железа, цинка и марганца в белках водных макрофитов. *Физиол. раст.* 1990. 37(4): 651–658.
- Кейтс М. *Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов*. М.: Мир, 1975. 322 с.
- Костюк К.В., Грубінко В.В. Вплив іонів цинку, свинцю та дизельного палива на ліпідний склад мембран клітин водних рослин. *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біологія*. 2010. 54: 257–264.
- Лукашич О.Я., Боднар О.І., Вінярська Г.Б., Грубінко В.В. Вплив селен-хром-ліпідної субстанції із *Chlorella vulgaris* Beij. на оксидативний статус щурів. *Med. and Clinical. Chem.* 2016a. 18(2): 28–33.
- Лукашич О.Я., Боднар О.І., Грубінко В.В. Вплив на метаболічні процеси в організмі селеновмісних біодобавок та перспективи їх використання. *Вісн. проблем біології та медицини*. 2016б. 2(3): 30–34.
- Мосулишвили Л.М., Белокобыльский А.И., Киркесали Е.И., Фронтьасева М.В., Павлов С.С., Аксенова Н.Г. *Исследование взаимодействия соединений хрома с синезеленой микроводорослью Spirulina platensis*. Дубна, 2002. 10 с.
- Топачевский А.В. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике*. Киев: Наук. думка, 1975. 247 с.
- Яцків О.С., Пацай І.О. Спектрофотометричне визначення Cr(III) з допомогою хромазурулу S в присутності Cr(VI). *Методи і об'єкти хім. аналізу*. 2009. 4(1): 43–47.
- Ahalya N., Ramachandra T., Kanamadi R. Biosorption of Heavy Metals. *Res. J. Chem. Environ.* 2003. 7(4): 71–78.
- Algal Chemical Ecology*. Ed. C.D. Amsler. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. 313 p.
- Araie H., Shiraiwa Y. Selenium Utilization strategy by microalgae: Review. *Molecules*. 2009. 14: 4880–4891.

- Bodnar O.I., Viniarska H.B., Lukashiv O.Ya., Grubinko V.V. Regulation of lipid biosynthesis in microalgae by metal ions (on the example of *Chlorella vulgaris* Beij. Int. Congr. Moscow, 2017. P. 494–496.
- Brady D., Letebele B., Duncan J., Rose P. Bioaccumulation of heavy metals by *Scenedesmus*, *Selenastrum* and *Chlorella* algae. *Water. South Afr.* 1994. 20(3): 231–218.
- Cho D., Lee S., Park S., Chung A. Studies on the biosorption of heavy metals on *Chlorella vulgaris*. *J. Environ. Sci. and Health. A.* 1994. 29(2): 389–409.
- Garg P., Tripathi R., Rai U. Cadmium accumulation and toxicity in submerged plant *Hydrilla verticillata*. *Environ. Monit. and Assess.* 1997. 47(2): 167–173.
- Grubinko V.V., Gorda A.I., Bodnar O.I., Klochenko P.D. Metabolism of Algae under the Impact of Metal Ions of the Aquatic Medium (a Review). *Hydrobiol. J.* 2011. 47(6): 75–88.
- Grubinko V.V., Lutsiv A.I., Kostyuk K.V. Structural reconstruction of a membran eat absorption of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , and Pb^{2+} with green algae *Chlorella vulgaris* Beij., Heavy metal pollutant sando the rpollutant sin the environment. In: *Biological Aspects*. Waretown: Apple Acad. Press, Inc., 2017. Vol. 14. P. 273–291.
- Hokin L., Hexum T. Studies on the characterization of the sodium–potassium transport adenosinetriphosphatase on the role of phospholipids in the enzyme. *Arch. Biochem. Biophys.* 1992. 151(2): 58–61.
- Jain S., Vasudevan P., Jha N. Taking off some heavy metals from the pollution water helping of water plant: experiences with *Azolla*. *Biol. Wast.* 1989. 28(2): 115–126.
- Kostyuk K.V., Grubinko V.V. Change of Composition of the Cellular Membranes of the Aquatic Plants under the Impact of Toxic Substances. *Hydrobiol. J.* 2012. 48(4): 75–92.
- Lutsiv A.I., Grubinko V.V. Localization of the Lipids' Synthesis in *Chorella vulgaris* under the Impact of Lead and Zinc Ions and Diesel Fuel. *Hydrobiol. J.* 2012a. 48(6): 95–106.
- Lutsiv A.I., Grubinko V.V. Concentrational and temporal characteristics of the absorption of ions Zn^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} and Cu^{2+} by cells of *Chlorella vulgaris* Beij.: Int. Symp. Poznań. 2012b. P. 26.
- Pawlik-Skowronska B. When adapted to high zinc concentrations the periphytic green alga *Stigeoclonium tenue* produces high amountsof novel phytochelatin-relatedpeptides. *Aquat. Toxicol.* 2003. 62(2): 156–163.
- Perales H.V., Pena-Castro J.M., Canizares-Villanueva R.O. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere.* 2006. 64: 1–10.
- Raize O., Argaman Y., Yannai S. Mechanisms of biosorption of different heavy metals by brown marine macroalgae. *Biotechnol. Bioeng.* 2004. 87(4): 451–458.
- Rodriguez-Ariza A., Dorado G., Peinado J. Biochemical effects of environmental pollution in fishes from the Spanish South-Atlantic littoral. *Biochem. Soc. Trans.* 1991. 19(3): 301 p.
- Selenium. *Altern. Med. Rev.* 2003. 8(1): 63–71.
- Thompson S., Manning F., McColl S. Comparison of the toxicity of chromium (III) and chromium (VI) to cyanobacteria. *Environ. Contam. and Toxicol.* 2002. 69(2): 286–293.
- Villares R., Puente X., Carballeira A. *Ulva* and *Enteromorpha* as indicators of heavy metals pollution. *Hydrobiologia.* 2001. 462: 221–232.

Поступила 31 мая 2017 г.

Подписала в печать Е.К. Золотарева

REFERENCES

- Ahalya N., Ramachandra T., Kanamadi R. *Res. J. Chem. Environ.* 2003. 7(4): 71–78.
- Algal Chemical Ecology*. Ed. Charles D. Amsler. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. 313 p.
- Araie H., Shiraiwa Y. *Molecules*. 2009. 14: 4880–4891.
- Bodnar O.I., Viniarska H.B., Lukashiv O.Ya., Grubinko V.V. *Regulation of lipid biosynthesis in microalgae by metal ions (on the example of Chlorella vulgaris Beij.)*: Int. Congr. Moscow, 2017. P. 494–496.
- Bodnar O.I., Vinyarska G.Ya., Grubinko V.V., Likhatskiy P.G., Fira L.S. *Sposib otrimannya biologichno aktivnogo selen-tsink-lipidnogo kompleksu z khlorelji [Method for producing a biologically active selenium-zinc-lipid complex from chlorella]*. Pat. 114650, Ukraine. Zareyestr. 10.03.17. Bull. N 5.
- Brady D., Letebele B., Duncan J., Rose P. *Water. South Afr.* 1994. 20(3): 231–218.
- Cho D., Lee S., Park S., Chung A. *J. Environ. Sci. and Health. A*. 1994. 29(2): 389–409.
- Dedkov Yu.M., Musatov A.V. *Selen: biologicheskaya rol, khimicheskie svoystva i metody opredeleniya [Selenium: biological role, chemical properties and methods of determination]*. Moscow: VINITI, 2002. P. 19–23.
- Dmitrieva A.G., Kozhanova O.N., Dronina N.L. *Fiziologiya rastitelnykh organizmov i rol metallov [Physiology of plant organisms and the role of metals]*. Moscow: Izd-vo MGU, 2002. 160 p.
- Garg P., Tripathi R., Rai U. *Environ. Monit. and Assess.* 1997. 47(2): 167–173.
- Gmshinskiy I.V., Mazo V.K., Tutelyan V.A., Khotimchenko S.A. *Ekol. morya*. 2000. 54: 5–20.
- Grubinko V.V. *Aktualnye problemy sovremennoy algologii [Actual problems of modern algology]*. Abstracts. Kiev, 2012. P. 83–85.
- Grubinko V.V., Gorda A.I., Bodnar O.I., Klochenko P.D. *Hydrobiol. J.* 2011. 47(6): 75–88.
- Grubinko V.V., Lutsiv A.I., Kostyuk K.V. In: *Biological Aspects*. Waretown: Apple Acad. Press, Inc., 2017. Vol. 14. P. 273–291.
- Hokin L., Hexum T. *Arch. Biochem. Biophys.* 1992. 151(2): 58–61.
- Jain S., Vasudevan P., Jha N. *Biol. Wast.* 1989. 28(2): 115–126.
- Keyts M. *Tekhnika lipidologii. Vydelenie, analiz i identifikatsiya lipidov [The technique of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids]*. Moscow: Mir Press, 1975. 322 p.
- Kostyuk K.V., Grubinko V.V. *Hydrobiol. J.* 2012. 48(4): 75–92.
- Kostyuk K.V., Grubinko V.V. *Visn. Lviv. un-tu. Ser. Biol.* 2010. 54: 257–264.
- Lutsiv A.I., Grubinko V.V. *Hydrobiol. J.* 2012a. 48(6): 95–106.
- Lutsiv A.I., Grubinko V.V. *Concentrational and temporal characteristics of the absorption of ions Zn²⁺, Mn²⁺, Pb²⁺ and Cu²⁺ by cells of Chlorella vulgaris Beij.* Int. Symp. Poznań. 2012b. P. 26.
- Mosulishvili L.M., Belokobylskiy A.I., Kirkesali E.I., Frontaseva M.V., Pavlov S.S., Aksenova N.G. *Issledovanie vzaimodeystviya soedineniy khroma s sinezelenoy mikrovdoroslyu Spirulina platensis [Investigation of the interaction of chromium compounds with the blue-green microalga Spirulina platensis]*. Dubna, 2002. 10 p.
- Pawlik-Skowronska B. *Aquat. Toxicol.* 2003. 62(2): 156–163.
- Perales H.V., Pena-Castro J.M., Canizares-Villanueva R.O. *Chemosphere*. 2006. 64: 1–10.
- Raize O., Argaman Y., Yannai S. *Biotechnol. Bioeng.* 2004. 87(4): 451–458.

- Rodrigues-Ariza A., Dorado G., Peinado J. *Biochem. Soc. Trans.* 1991. 19(3): 301 p.
- Selenium. *Altern. Med. Rev.* 2003. 8(1): 63–71.
- Thompson S., Manning F., McColl S. *Environ. Contam. and Toxicol.* 2002. 69(2): 286–293.
- Topachevskiy A.V. *Metody fiziologo-biokhimicheskogo issledovaniya vodorosley v gidrobiologicheskoy praktike [Methods of physiological and biochemical study of algae in hydrobiological practice]*. Kiev: Nauk. Dumka Press, 1975. 247 p.
- Villares R., Puente X., Carballeira A. *Hydrobiologia.* 2001. 462: 221–232.
- Vinyarska G.B. *Nakopichennya selenu ta yogo vpliv na metabolizm u Chlorella vulgaris Beij. v kulturi za diyi selenitu natriyu ta yoniv metaliv [Accumulation of selenium and its effects on metabolism in Chlorella vulgaris Beij. in culture for the action of sodium selenite and metal ions]*. Abstracts. Ph.D. Sci. (Biol.), Ternopil, 2016.
- Yatskiv O.S., Patsay I.O. *Metody i ob'ekty khim. analizu.* 2009. 4(1): 43–47.
- Zolotukhina E.Yu., Gavrilenko E.E. *Fiziol. rast.* 1990. 37(4): 651–658.

ISSN 0868-854 (Print)

ISSN 2413-5984 (Online). *Algologia.* 2017, 27(4): 415–425

doi: 10.15407/alg27.04.415

Lukashiv O.Ya., Bodnar O.I., Vinyarska G.B., Grubinko V.V.

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
Department of General Biology and Methods of Teaching Natural Sciences,
2 M. Kryvonosa Str., Ternopil 46027, Ukraine

ACCUMULATION OF CHROMIUM AND SELENIUM INSIDE CELLS AND IN LIPIDS OF *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ. DURING THE INCUBATION FROM CHROMIUM BY SODIUM CHLORIDE AND SELENIUM

We investigated the concentration and timing characteristics of chromium (Cr³⁺) absorption in the presence of selenium (Se⁴⁺) inside the cells as well as in lipids of *Chlorella vulgaris* microalgae. Discovered patterns of chromium accumulation had a pronounced fluctuation, which can be divided into four phases: cells' adaptation to the new factor, associated with membrane mechanisms of cell stress response formation; active accumulation phase, which ends after the saturation of binding sites with metal ions, first with metallothionein proteins; suppression controlled metal fixation particularly in the cell and in lipids; stage of accumulation recovery that is chaotic and uncontrolled by the cell and accompanied by its death.

Key words: selenium, chromium, lipids, *Chlorella vulgaris*, accumulation, metals, ions