

O.M. Vasylenko

Ivan Franko Zhytomyr State University, Ukraine

THE INFLUENCE OF CHROME (III) IONS ON BASIC TROPHOLOGICAL INDICES OF *LYMNAEA CORVUS* (MOLLUSCA: PULMONATA)

It was studied an influence of different concentrations of Cr^{3+} ions on amount of average daily rations, time of digestion of food by *Lymnaea corvus* during taking different food types (*Alisma*, *Nymphaea*, *Populus*). It has been established that pathological progress induced by influence of this toxicant, is characterized by phases presence.

Keywords: Lymnaea, quantitative trophological indexes, trematodes invasion, chrome (III) ions

УДК (57.017.7+577.122)582.263

О.В. ВАСИЛЕНКО, О.І. БОДНАР, Г.Б. ВІНЯРСЬКА

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

**ОСОБЛИВОСТІ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ТА АЗОТНОГО ОБМІНУ
CHLORELLA VULGARIS BEIJ. ЗА СУМІСНОЇ ДІЇ СЕЛЕНІТУ
НАТРІЮ ТА ІОНІВ МЕТАЛІВ**

Досліджували активність сукцинатдегідрогенази, цитохромоксидази та глутаматдегідрогенази у *Chlorella vulgaris* Beijer. за дії селеніту натрію із розрахунку на Se^{4+} – 10 мг/дм³, та сумісної дії селеніту з металами – Zn^{2+} – 5 мг/дм³, Mn^{2+} – 0,25 мг/дм³, Cu^{2+} – 0,002 мг/дм³, Fe^{3+} – 0,008 мг/дм³, Co^{2+} – 0,05 мг/дм³, на 7-му добу експозиції. Встановили, що за дії селеніту активність ферментів енергетичного обміну (СДГ та ЦО) зросла, тоді як активність ГДГ зменшилася. За сумісної дії селеніту з металами відмітили пригнічення активності СДГ і ЦО та активацію ГДГ. Отримані результати свідчать про адаптаційні перебудови азотного обміну та збільшення ролі амінокислот у енергетичному забезпеченні клітин *Ch. vulgaris* за сумісної дії селеніту з іонами металів.

Ключові слова: Chlorella vulgaris, селеніт натрію, іони металів, сукцинатдегідрогеназа, цитохромоксидаза, глутаматдегідрогеназа

Сполуки селену залежно від їх хімічної природи, концентрації та резистентності організмів впливають на гідробіонтів як позитивно, так і негативно [2]. Для водоростей відома роль сполук селену як антиоксидантів, що знижують віддалені токсичні ураження, викликані важкими металами [2]. Досліджуючи сумісну дію селеніту натрію та іонів металів на *Ch. vulgaris*, ми виходили з того, що показником успішності формування стратегій виживання у токсичному середовищі є ефективність функціонування метаболічних систем в організмі гідробіонтів [1]. Зокрема стійкість водоростей до токсикантів визначається енергетичним статусом клітини [8]. Регуляторними ферментами, що визначають функціонування ланцюга перетворень енергетичних субстратів, є фермент циклу три карбонових кислот – сукцинатдегідрогеназа (СДГ) та фермент електронно-транспортного ланцюга – цитохромоксидаза (ЦО). Важливу функцію в енергетичному обміні виконує глутаматдегідрогеназа (ГДГ) – фермент азотного обміну, що може здійснювати субстратне регулювання ЦТК за рахунок дезамінування глутамату з утворенням 2-оксоглутарату чи, навпаки, зворотній процес. Як відновник у глутаматдегідрогеназній реакції використовується НАДН (дезамінування глутамату) або НАДФН (амінування 2-оксоглутарату) [3, 6].

Метою роботи було встановити зміни активності зазначених ферментів у *Ch. vulgaris* за сумісної дії селеніту натрію та іонів металів.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження була *Chlorella vulgaris* Beij., яку вирощували в умовах накопичуючої культури на середовищі Фітцджеральда [4] при температурі 23-25 С та освітленні лампами денного світла (інтенсивність 2500 лк). Селен вносили у вигляді селеніту натрію із розрахунку на Se^{4+} – 10 мг/дм³. Солі металів вносили у розрахунку на іон металу: Zn^{2+} – 5 мг/дм³, Mn^{2+} – 0,25 мг/дм³, Cu^{2+} – 0,002 мг/дм³, Fe^{3+} – 0,008 мг/дм³, Co^{2+} – 0,05 мг/дм³. Контролем була культура, яку вирощували у середовищі без селену та солей металів. Відбір проб для аналізу здійснювали на 7-му добу культивування.

Активність СДГ (КФ 1.3.99.1) визначали за окисненням сукцинату до фумарату ферриціанідом калію, що реєстрували спектрофотометрично при довжині хвилі 420 нм [4]. Активність ЦО (КФ 1.9.3.1) встановлювали за конденсацією α -нафтолу та парафенілендіамінгідрохлориду з утворенням фенолу (540 нм) [9]. Активність глутаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.2) визначали за швидкістю окислення НАДН або НАДФН при 340 нм [5].

Вміст білків визначали за методом Лоурі і співавт.

Результати досліджень та їх обговорення

За дії селеніту натрію у *Ch. vulgaris* виявлено активацію СДГ та ЦО у 2,6 та 1,5 раза відповідно порівняно з контролем (табл.).

Таблиця

Активність СДГ, ЦО, НАДН-ГДГ та НАДФН-ГДГ у *Ch. vulgaris* за дії селеніту натрію та іонів металів

| Умови досліджу | СДГ, нмоль сукцинату/ мг білку·хв. | ЦО, мкг індофенолу синього/ мг білку·хв. | НАДН-ГДГ, мкмоль $\times 10^{-3}$ НАДН/ мг білку·хв. | НАДФН-ГДГ, мкмоль $\times 10^{-3}$ НАДФН/ мг білку·хв. | НАДН-ГДГ/ НАДФН-ГДГ |
|---------------------------------|------------------------------------|--|--|--|---------------------|
| контроль | 12,99 \pm 1,24 | 1,11 \pm 0,05 | 8,93 \pm 0,66 | 11,85 \pm 0,75 | 0,75 |
| Se^{4+} | 33,70 \pm 2,07* | 1,68 \pm 0,01* | 4,56 \pm 1,10* | 9,84 \pm 1,03 | 0,46 |
| $\text{Se}^{4+}+\text{Co}^{2+}$ | 9,72 \pm 0,68 | 1,05 \pm 0,06 | 18,30 \pm 1,45* | 29,18 \pm 2,67* | 0,63 |
| $\text{Se}^{4+}+\text{Mn}^{2+}$ | 9,64 \pm 0,69 | 0,86 \pm 0,03* | 25,11 \pm 6,04* | 40,52 \pm 1,57* | 0,62 |
| $\text{Se}^{4+}+\text{Cu}^{2+}$ | 5,89 \pm 0,22* | 0,56 \pm 0,02* | 47,43 \pm 6,48* | 63,01 \pm 1,24* | 0,75 |
| $\text{Se}^{4+}+\text{Zn}^{2+}$ | 5,84 \pm 0,22 | 0,55 \pm 0,03* | 72,70 \pm 2,26* | 65,18 \pm 7,37* | 1,11 |
| $\text{Se}^{4+}+\text{Fe}^{3+}$ | 2,34 \pm 0,24* | 0,54 \pm 0,02* | 45,06 \pm 2,08* | 55,89 \pm 9,81* | 0,81 |

Примітка. * – $p < 0,05$

За сумісної дії селеніту та іонів металів активність СДГ значно знизилася як порівняно з контролем, так і порівняно з дією лише селеніту. Так, за дії суміші $\text{Se}^{4+}+\text{Co}^{2+}$ ці показники зменшилися на 25,17% та 71,16% відповідно, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Mn}^{2+}$ – на 25,79% та 71,79%, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Cu}^{2+}$ – на 54,66% та 82,52%, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Zn}^{2+}$ – на 50,04% та 80,74%, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Fe}^{3+}$ – на 81,99% та 93,06%.

Динаміка активності ЦО за одночасної дії селеніту та іонів металів була аналогічною. За дії $\text{Se}^{4+}+\text{Co}^{2+}$ вона зменшилася на 5,41% порівняно з контролем та на 37,5% порівняно з впливом лише селеніту, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Mn}^{2+}$ – на 22,52% та 48,81% відповідно, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Cu}^{2+}$ – на 49,55% та 66,67%, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Zn}^{2+}$ – на 50,45% та 67,26%, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Fe}^{3+}$ – на 51,35% та 67,86%.

Динаміка активності ГДГ у *Ch. vulgaris* була протилежною, ніж СДГ та ЦО. За дії селеніту активність НАДН-залежної ГДГ зменшилася на 48,94%. За одночасної дії $\text{Se}^{4+}+\text{Co}^{2+}$ відмітили активацію ферменту у 2,1 раза порівняно з контролем, та у 4,0 раза порівняно з дією селеніту. За дії $\text{Se}^{4+}+\text{Mn}^{2+}$ ці показники збільшилися у 2,8 та 5,5 раза, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Cu}^{2+}$ – у 5,3 та 10,4 раза, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Zn}^{2+}$ – у 8,1 та 15,9 раза, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Fe}^{3+}$ – у 5,0 та 9,9 раза відповідно. Аналогічно змінювалася активність НАДФН-залежної ГДГ. При додаванні селеніту натрію активність ферменту зменшилася на 16,96%. При сумісній дії селеніту та іонів металів активність НАДФН-ГДГ збільшувалася. За дії $\text{Se}^{4+}+\text{Co}^{2+}$ активність ферменту збільшилася у 2,5 раза щодо контролю та у 3,0 раза порівняно з впливом селеніту окремо, за дії $\text{Se}^{4+}+\text{Mn}^{2+}$ – у 3,4

та 4,1 раза, за дії $\text{Se}^{4+} + \text{Cu}^{2+}$ – у 5,3 та 6,4 раза, за дії $\text{Se}^{4+} + \text{Zn}^{2+}$ – у 5,5 та 6,6 раза, за дії $\text{Se}^{4+} + \text{Fe}^{3+}$ – у 4,7 та 5,7 раза.

Співвідношення НАДН-ГДГ/НАДФН-ГДГ, що вказує на спрямованість глутаматдегідрогеназної реакції, також зазнало змін (див. табл.). Зв'язування амонію переважало за дії селеніту, $\text{Se}^{4+} + \text{Co}^{2+}$ і $\text{Se}^{4+} + \text{Mn}^{2+}$. За дії $\text{Se}^{4+} + \text{Cu}^{2+}$ це співвідношення було близьким до значень у контролі. За дії $\text{Se}^{4+} + \text{Fe}^{3+}$ співвідношення НАДН-ГДГ/НАДФН-ГДГ дещо змістилося в бік катаболічної реакції. Щодо дії $\text{Se}^{4+} + \text{Zn}^{2+}$, то в цьому випадку реакція повністю змістилася в бік дезамінування глутамату.

Отже, при додаванні у середовище культивування *Ch. vulgaris* 10 мг $\text{Se}^{4+}/\text{дм}^3$ відмічена активація ферментів енергетичного обміну (СДГ і ЦО) та ігнібування ГДГ, тоді як за одночасної дії селеніту та іонів металів динаміка активності цих ферментів була протилежною. Можливим поясненням такого феномену є схожість хімічних властивостей селену та сірки, внаслідок чого вони можуть заміщувати один одного у сполуках. При цьому Se^{4+} може бути як синергістом, так і антагоністом сірки. Заміщення групи -SH на групу -SeH у деяких ферментах, зокрема і СДГ, інгібує їхню дегідрогеназну здатність та пригнічує клітинне дихання [7]. Можливе заміщення в дихальному ланцюгу сірки на Se в залізо-сірчаних центрах Fe-S могло активувати ферменти дихального ланцюга (ЦО та СДГ), збільшуючи таким чином кількість АТФ та ініціюючи алостеричне інгібування ГДГ [3]. Внесення іонів металів у поживне середовище, що вже містило селеніт, могло спричинити утворення біонедоступних комплексів як поза клітинами водорості, так і в них. Це сприяло детоксикації, проте зменшувало кількість доступного селену, що негативно відбилося на активності СДГ та ЦО. Значна активація НАДФН-ГДГ вказує на здійснення первинної детоксикації надлишкового аміаку, що інтенсивно утворюється у клітинах водорості за дії металів, збільшення активності НАДН-ГДГ свідчить про залучення амінокислот до енергетичного забезпечення ЦТК за рахунок реакцій дезамінування [1].

Висновки

Селеніт натрію у концентрації 10 мг $\text{Se}^{4+}/\text{дм}^3$ активував у *Ch. vulgaris* ферменти енергетичного обміну (СДГ і ЦО) та ігнібував ГДГ. За сумісної дії селеніту натрію та іонів металів (Zn^{2+} – 5 мг/дм³, Mn^{2+} – 0,25 мг/дм³, Cu^{2+} – 0,002 мг/дм³, Fe^{3+} – 0,008 мг/дм³, Co^{2+} – 0,05 мг/дм³) активність СДГ та ЦО зменшилася, а НАДН- та НАДФН-залежних форм ГДГ збільшилася. Останнє можна пояснити здатністю селеніту та іонів металів утворювати біонедоступні комплекси, пригнічуючи цим активність ферментів енергетичного обміну, що зумовлює необхідність залучення до ЦТК альтернативного енергетичного субстрату – глутамату, на що вказує зростання активності ГДГ і зміщення рівноваги у бік дезамінування.

1. Боднар О. І. Адаптивні властивості водоростей за дії іонів металів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спеціальність 03.00.17 – Гідробіологія / О. І. Боднар. – К., 2009. – 22 с.
2. Боднар О. І. Особенности накопления селена и его биологическая роль у водорослей (обзор) / О. И. Боднар, Г. Б. Винярская, Г. В. Станиславчук, В. В. Грубинко // Гидробиол. журн. – 2014. – Т. 50, № 5. – С. 72–89.
3. Кретович В. Л. Усвоение и метаболизм азота в растениях / В. Л. Кретович. – М.: Наука, 1987. – 486 с.
4. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): учебное пособие / [под ред. М.И. Прохорова]. – Ленинград : Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 273 с.
5. Софьин А. В. Глутаматдегидрогеназы одноклеточной зеленой водоросли. Кинетические свойства / А. В. Софьин, В. Р. Шатилов, В. Л. Кретович // Биохимия. – 1984. – Т. 49, № 2. – С. 334–345.
6. Шатилов В. Р. Глутаматдегидрогеназы / В. Р. Шатилов // Энзимология ассимиляции аммония у растений: сб. научн. трудов. – 1987. – Т. 24. – С. 4–104 / Итоги науки и техники. Серия «Биологическая химия» – М.: ВИНТИ, 1987. – Т. 24. – С. 5–104.
7. Ray N. R. Liver succinoxidase and kidney dehydrogenase activities on selenium toxicity/ N. R. Ray, A. K. Ray / Indian Vet. J. – 1975. – Vol. 52, № 4. – P. 267–270.
8. Schmid K. M. Lipid metabolism in plants. Chap. 4. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (4th Ed.) / K.M. Schmid, J.B. Ohlroge / Eds. D. E. Vance, J. E. Vance. – Elsevier Science B.V., 2002. – P. 93–126.

9. Straus W. Colometric microdetermination of cytochrome c oxidase / W. Straus // J. Biol. Chem. – 1954. – Vol. 207, № 2. – P. 733.
10. Wang D. Toxicity and accumulation of selenite in four microalgae/ D. Wang, Zh. Cheng, L. Shaojing [et al.] / Chinese J. Oceanology and Limnology. – 2003. – Vol. 21, № 3. – P. 280–285.

О.В. Василенко, О.И. Боднар, Г.Б. Винярская

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Украина

ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И АЗОТНОГО ОБМЕНА У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ. ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ И ИОНОВ МЕТАЛЛОВ

Исследовали активность сукцинатдегидрогеназы, цитохромоксидазы и глутаматдегидрогеназы у *Chlorella vulgaris* Beij. при действии селенита натрия в расчете на Se^{4+} – 10 мг/дм³ и совместного действия селенита с металлами – Zn^{2+} – 5 мг/дм³, Mn^{2+} – 0,25 мг/дм³, Cu^{2+} – 0,002 мг/дм³, Fe^{3+} – 0,008 мг/дм³, Co^{2+} – 0,05 мг/дм³, на 7-е сутки экспозиции. Установлено, что при действии селенита активность ферментов энергетического обмена увеличилась, а активность ГДГ уменьшилась. При совместном действии селенита с ионами металлов отметили угнетение активности СДГ и ЦО и активацию ГДГ. Полученные результаты свидетельствуют о адаптационных перестройках азотного обмена и увеличении роли аминокислот в энергетическом обеспечении клеток *Ch. vulgaris* при совместном действии селенита и ионов металлов.

Ключевые слова: селенит натрия, ионы металлов, *Ch. vulgaris*, сукцинатдегидрогеназа, цитохромоксидаза, глутаматдегидрогеназа

O.V. Vasylenko, O.I. Bodnar, G.B. Viniarska

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

THE COMBINED EFFECT OF Se^{4+} WITH AND OF METAL IONS ON ENERGY AND NITROGEN METABOLISM *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ.

The activity of succinate dehydrogenase (SDH), cytochrom oxidase (CO) and glutamate dehydrogenase (GDH) in *Chlorella vulgaris* Beij. cell at the 7 days influence of sodium selenite 10 mg Se^{4+} /dm³ and combined effect Se^{4+} with metal salts in concentrations: Zn^{2+} – 5 mg/dm³, Mn^{2+} – 0,25 mg/dm³, Cu^{2+} – 0,002 mg/dm³, Fe^{3+} – 0,008 mg/dm³, Co^{2+} – 0,05 mg/dm³ was investigated. The effect of Se^{4+} leads to the activation of enzymes of energy metabolism, and inhibition the activities of GDH. Inhibition of the activity of SDH and CO and activation of GDH under the combined effect of Se^{4+} with metals was observed. The obtained results indicate adaptive adjustment of nitrogen metabolism and increase the role of amino acids in the energy supply of cells *Ch. vulgaris* under the combined effect of sodium selenite with metals ions.

Keywords: sodium selenite, metals ions, *Ch. vulgaris*, succinate dehydrogenase, cytochrom oxidase, glutamate dehydrogenase

УДК 574.4 (477.74) (26.05)

А.К. ВИНОГРАДОВ, И.А. СИНЕГУБ

Институт морской биологии НАН Украины
ул. Пушкинская, 37, Одесса, 65011, Украина

ВАЖНЕЙШИЕ АБИОТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И БИОТОПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА АКВАТОРИЙ МОРСКИХ ПОРТОВ

Черноморские порты Украины – Одесский, Ильичевский, Южный – размещены в северо-западной части Черного моря в районе г. Одессы на участке берега протяженностью около