

УДК [577.115 + 561.26/.27]575.826

*В. В. Грубінко, О. І. Боднар, А. І. Луців, Г. Б. Вінярська*

### **АДАПТИВНА РОЛЬ ЛІПІДІВ У ВОДОРОСТЕЙ ЗА ДІЇ ЙОНІВ МЕТАЛІВ (ОГЛЯД)**

Проаналізовано сучасні уявлення щодо фізіолого-біохімічного статусу та відповіді ліпідної системи водоростей за дії йонів металів. Показано, що складовими стрес-адаптаційного синдрому водоростей до дії сполук металів як окремо, так і в умовах модифікації іншими факторами середовища, є зміни структури і ліпідного складу клітинної оболонки та клітинних мембран, зміни спрямування та інтенсивності ліпідного і суміжного з ним енергетичного метаболізму, зміни співвідношення окремих класів ліпідів, модифікація пероксидного окиснення ліпідів, загальна зміна метаболізму, спрямована на формування нового рівня адаптивного статусу організму у стресових умовах.

**Ключові слова:** водорості, метали, ліпідний обмін, класи ліпідів, мембрана.

Життєдіяльність водоростей відбувається в умовах постійних змін значимих для них фізико-хімічних та біотичних параметрів середовища існування, часто з амплітудами коливань, що перевищують норму реакції організмів та видів у цілому [51, 61]. В антропогенну еру, крім природних чинників, суттєвий вплив на гідробіоти спричиняє господарська діяльність людини, що виражається, насамперед, у забрудненні водойм поліютантами з неспецифічною дією, до яких у організмів немає адаптації [27, 76, 104]. На даний час практично не існує хімічно незабруднених водойм, а підвищення вмісту традиційних токсичних речовин в них і поява нових призводить до їх акумуляції гідробіонтами і, як наслідок, порушення життєдіяльності у змінених фізико-хімічних умовах, що позначається на морфо-структурних характеристиках, складі і метаболізмі [9, 79].

Будова і функції метаболічних систем, енергоутворення і теплорегуляції, ступінь їх залучення у регуляцію гомеостазу, а також рівні розвитку і переважання клітинної і організмової регуляції метаболізму відрізняються у представників різних таксонів [31]. Тому організми відповідають на дію чинників набором не лише стереотипних, а й специфічних фізіолого-біохімічних реакцій, спрямованих на подолання порушень їх життєдіяльності, що забезпечує так звану термінову адаптацію, що є першою фазою індивідуальної адаптації, з якої розвивається друга фаза — довготривала [9,

© В. В. Грубінко, О. І. Боднар, А. І. Луців, Г. Б. Вінярська, 2018

53]. Її особливість полягає у здатності підвищувати стійкість організму до дії чинників та формувати так званий системно-структурний слід, який викликає біфуркаційні структурно-функціональні зміни і дозволяє повністю подолати порушення гомеостазу [2, 9].

Водорості підлягають цим закономірностям і мають певний набір адаптацій до широкого діапазону чинників [27, 70]. Разом з тим, при очевидності широкого спектру адаптивних відповідей, залишається відкритим питання про їх природу — це норма реакції (метаболічна варіабельність) чи епігенетичні відповіді, а якщо реалізуються обидва механізми, то яке їх співвідношення залежно від типу чинника, його параметричних (сила та частота) характеристик і специфічності (традиційний, неспецифічний).

Під впливом пресу зовнішніх чинників у процесі онтогенезу водні організми здатні виробляти адаптації, які дозволяють їм стабільно функціонувати на молекулярному та фізіолого-біохімічних рівнях [4, 9]. Ланцюг безперервних змін, спрямований на підтримання та відновлення гомеостазу, пов'язують з біохімічним складом та метаболізмом, включно з ліпідним [49, 51].

З'ясування фізіолого-біохімічних механізмів адаптацій водоростей до середовища, що містить сполуки металів, є основою для пошуку ефективних біомаркерів їх стану, засобів підвищення стійкості у видозмінених умовах існування та регуляції біосинтезу з метою отримання біологічно активних речовин і водоростевого біопалива [28, 51, 90].

Про те, що екологічні забруднювачі, насамперед важкі метали, впливають на ліпідний обмін, відомо давно [8, 17, 63]. Виділяють два механізми формування стійкості до їх дії: позаклітинні — попередження проникнення іонів металу всередину клітини, і внутрішньоклітинні — метаболічні перебудови, спрямовані на іммобілізацію, детоксикацію і виведення металу [78].

*Структурно-функціональні зміни мембран водоростей за дії металів.* Відповідь і адаптація організму на дію чинників визначається швидкістю і механізмом надходження токсиканту до клітини, згодом — ступенем його акумулювання у метаболічно активних структурах, а також фізико-хімічними властивостями і фізіологічною роллю в організмі. Накопичення речовин здійснюється через сайти зв'язування на поверхні клітинної стінки з наступним послідовним перетворенням токсикантів та речовин, з якими ті вступають у клітині у взаємодію, викликаючи як пошкодження, так і адаптивні структурно-функціональні реакції. При цьому найбільш критичним є власне проникнення токсичних речовин через клітинні оболонки і структурна і функціональна (метаболічна) опірність клітин на мембранному рівні. Стійкість клітинних мембран у несприятливих умовах залежить від їх структури, функціонального стану, а також молекулярного складу, кількісних і якісних змін мембранних ліпідів [49]. Внаслідок дії токсичних речовин відбуваються зміни фізичних характеристик клітинних мембран: товщини, щільності, текучості, проникності, рухливості, а відтак порушується мембранний потенціал, транспорт речовин, комунікація клітин, активність багатьох ензимів [1, 14].

У стійкості рослин до дії чинників зовнішнього середовища крім специфічних (щільність, в'язкість, проникність та ін.) важливу роль відіграють і неспецифічні реакції мембран, які часто пов'язані зі зміною їх структури і складу [13, 45]. Так, дія агресивного чинника насамперед викликає морфологічні зміни мембрани, які проявляються у збільшенні кількості, протяжності і площі мембранних структур [96], що з'являються у результаті пероксидного окиснення мембранних ліпідів і формуються з фосфоліпідів [85], потовщенні клітинних мембран [13, 18], посиленні їх складчастості, збільшенні гірозності клітинної оболонки, появи зон фібрилярно-гранулярного матеріалу і формуванні компактних нуклеоїдів [72]. Отруєння солями важких металів призводить до збільшення проникності мембран і набрякання клітин, що сприяє виходу цитоплазми назовні [2, 8].

Одним з фізіолого-біохімічних феноменів, який спостерігається у клітинних мембранах водних рослин, є їх здатність адаптуватися до токсичних чинників середовища після первинного ушкодження токсикантами і значної втрати функцій і з часом відновлювати функціональну активність — утворення так званої «подвійної концентричної мембранної системи» [13]. Явище подвоєння ліпід-білкової частини клітинної оболонки у водних рослин — це здатність клітин адаптуватися до дії стресових чинників за рахунок потовщення і мультиплікативної фрагментації клітинних мембран, що виявлено при вирощуванні хлорели і мікрокока у радіоактивній воді [19]. Існує думка, що формування «подвійної концентричної мембранної системи» є універсальною відповіддю клітин на токсичний стрес і відбувається вже впродовж перших годин дії стресорів незалежно від їх природи [13]. Крім того, у клітинах, вирощених у середовищі, що містить токсичні йони металів, виявлені істотні морфологічні відмінності, а саме: збільшення зернистості цитоплазми, поява другого концентричного шару мембран, підвищення вакуолізації і конденсації речовини білого кольору, потовщення концентричного утворення і зменшення об'єму ядерно-цитоплазматичного простору. Припускають, що «подвійна концентрична мембранна система» функціонує як і первинна, що підтверджується її білково-ліпідним складом [13] та активацією біосинтезу фосфоліпідів та триацилгліцеролів при інтоксикації. Доведено, що чим агресивніший токсикант, тим більша маса накопичуваних адаптивних макромолекул, що свідчить про їхню участь у процесі подвоєння мембранних структур.

Перебудови мембран за дії йонів металів також викликають послідовні зміни їх складу і обміну речовин, насамперед порушення функціонування мембранної  $H^+$ -АТФ-ази [4, 62]. Йони цинку практично не впливають на мембранні АТФ-ази до концентрації  $5,0 \text{ мг/дм}^3$ , бо мають високу проникність, рухливість у клітині і комплексоутворюючу здатність [8], а йони свинцю інгібують активність АТФ-ази [46], оскільки характеризуються високою спорідненістю до білків і міцним утримуванням ними цього металу у складі металтіонеїнів [14].

На думку автора дослідження [13], зміна проникності клітинної мембрани у *Chlorella vulgaris* при токсичних впливах залежить від природи чинника, концентрації і часу дії. Так, за дії йонів цинку проникність мембран хлорели зменшується, що перешкоджає проникненню надлишку йонів металу у клітину; за дії йонів свинцю — зменшується до третьої доби дії, але на сьому

добу зростає залежно від концентрації металу в середовищі. Отже, у відповідь на дію йонів токсичних металів у мембранних структурах клітинної стінки водоростей вмикаються різноманітні структурно-функціональні захисно-компенсаторні реакції — прискорення активного транспорту речовин, репаративний синтез пошкоджених мембран, посилена регенерація антиоксидантних систем, перерозподіл наявних у клітині енергетичних ресурсів, спрямованих на відновлення порушеного гомеостазу [13, 45].

Одним з найважливіших мембранних механізмів адаптації водоростей до несприятливих чинників є зміна активності і спрямованості їх метаболічних систем, які забезпечують як внутрішньоклітинне знешкодження, так і виведення шкідливих речовин з клітин [83]. Ці системи або наявні у клітині постійно або активуються при безпосередньому впливі [14].

*Зміни ліпідного складу клітин за дії йонів металів.* Встановлено, що одним з основних шляхів інактивації надлишку йонів металів у рослинному організмі є утворення металоорганічних комплексів із структурними компонентами клітини або функціональними групами розчинних метаболітів [51]. Вплив йонів металів, насамперед важких, обумовлений їх денатуруючою дією на білки, серед яких найважливішими є транспортні білки мембран та ензими. Від цього також залежить зміна мембранної проникності, оскільки йони важких металів змінюють конформацію білкових молекул у складі біліпідного шару та різко збільшують проникність мембрани для йонів натрію, калію, хлору, кальцію і магнію, що призводить до швидкого набрякання клітин, виходу вмісту цитоплазми назовні і розпаду цитоскелету [2, 24].

Механізм поглинання йонів металів є флуктуаційним і здійснюється у чотири етапи: етап самоізоляції (стрес-реакція) клітин, етап активного поглинання (зниження опірності клітинної мембрани та її руйнування), етап пригнічення (формування подвійної концентричної мембранної системи), етап відновленого поглинання (вичерпання захисних ресурсів клітин) [45, 67]. При цьому встановлено первинну роль мембранних ліпідів у регуляції транспортування йонів металів через мембрани і їх детоксикації. При дослідженні дії нітрату кадмію на *Potamogeton perfoliatus* [86] виявлено стійкі структурні ліпіди: нейтральні, вміст яких збільшувався під впливом  $\text{Cd}^{2+}$ , а також лабільні і нестійкі. Йони свинцю суттєво впливали на фосфоліпідний склад *Cladophora glomerata*, особливо фосфатидилхолінів і фосфатидилгліцеролів, також відмічено їх здатність впливати на дегідрогенізацію жирних кислот фосфоліпідів [57]. Важливу роль у процесах адаптації відіграють зміни складу структурних ліпідів, а їх високий вміст забезпечує стійкість мембран до дії різних чинників середовища і забезпечує нормальну роботу вбудованих в мембрану білків і рецепторів [13].

Водорості, як і вищі рослини, містять різноманітні типи речовин ліпідної природи, такі, як неполярні ліпіди — триацилгліцероли (ТАГ), дیاцилгліцероли (ДАГ), неетерифіковані жирні кислоти (НЕЖК) і полярні — глікозилгліцероли (ГГЦ) і фосфогліцероли (ФГ). У більшості органел водоростей переважають фосфоліпіди (ФЛ), однак мембрани хлоропластів синьозелених водоростей представлені чотирма класами гліцероліпідів, з яких фосфоліпідом є лише фосфатидигліцерол (ФГЛ). ТАГ мікрowodоростей є резер-

вом енергії, вони мають високий вміст насичених і мононенасичених жирних кислот, проте деякі види здатні накопичувати і довголанцюгові поліненасичені жирні кислоти [29, 30, 50, 63]. Більшість водоростей здатні запасати досить велику кількість ліпідів (до 57%) у формі ТАГ, які відкладаються в цитоплазмі у вигляді великих крапель [29]. У клітинах, що активно діляться, частка ТАГ зазвичай є низькою, однак перехід у стаціонарну фазу росту чи вплив окремих стресових чинників може стимулювати їх нагромадження [3]. Посилений біосинтез ТАГ та відкладання їх у запас вважається одним з елементів первинної відповіді умовам, за яких кількість енергії, що надходить ззовні, перевищує можливості клітини утилізувати її під час росту і поділу [84]. Для прокаріотичних синьозелених водоростей невластиве запасаання ліпідів у формі ТАГ [3], практично всі їх жирні кислоти входять до складу полярних ліпідів, які утворюють систему фотосинтетичних мембран [29].

Йони металів викликають різноспрямовані зміни ліпідного складу клітин, що може бути пов'язане з різними механізмами їх дії на клітинний метаболізм та його адаптивні перебудови за токсичного впливу. Дія більшості йонів металів викликає посилення біосинтезу, накопичення ліпідів, насамперед ТАГ, зростання вмісту жирних кислот, що виявлено за дії  $Cd^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  та  $Zn^{2+}$  на різні види мікроводоростей [50, 64, 68, 106].

Показано [64], що у клітинах *Chlorella vulgaris* у фазі пізнього експоненціального росту загальний вміст ліпідів зростає до 56,6% сухої маси після дводенного культивування у середовищі з йонами Fe і повторного інокулювання у середовище з додаванням  $1,2 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup>  $FeCl_3$ . Кадмій (2,0 мг/мл) збільшував загальний вміст ліпідів у клітинах автотрофних, гетеротрофних (у темноті) і міксотрофних (на світлі) культур *Euglena gracilis* [40]. Встановлено, що  $LK_{50}$  міді для *E. gracilis* становила 0,22 мМ, а цинку — 0,88 мМ [40].

Вплив  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  та  $Cd^{2+}$  призводив до збільшення вмісту олеату і вмісту лінолевої (C18:2) кислоти і десатурованих та 24-етил-стиролових компонентів у *Chlorella kessleri* [87]. Біосинтез ліпідів у *Chlorella vulgaris* Beij. за дії йонів металів залежить від природи металу, рівня токсичності (для  $Cu^{2+}$  і  $Pb^{2+}$ ), біологічної ролі у клітині і механізму дії. Біотехнологічно ефективними для накопичення ліпідів водоростями є вплив  $Mn^{2+}$  (0,2 мг/дм<sup>3</sup>, три доби), що збільшує вміст загальних ліпідів на 47%,  $Zn^{2+}$  (5,0 мг/дм<sup>3</sup>, сім діб) — на 15%,  $Cu^{2+}$  (0,002 мг/дм<sup>3</sup>, три доби) — на 33%,  $Pb^{2+}$  (0,5 мг/дм<sup>3</sup>, сім діб) — на 32% відносно контролю [17, 18].

*Регуляція ліпідного метаболізму у водоростей йонами металів.* Для послаблення несприятливого впливу у клітинах відбувається і адаптивна перебудова ліпідного складу та обміну, спряжена з енергетичним метаболізмом, оскільки, з одного боку, власне біосинтез ліпідів вимагає значних енергетичних витрат, а з іншого — ліпіди самі є високоенергетичним субстратом для утворення енергії у клітинах [4, 68]. Метаболічні процеси відрізняються високою чутливістю і швидко реагують на будь-які зміни в енергетичних потребах клітини [9, 46]. Це досягається підвищенням інтенсивності енергетичного обміну і перерозподілом наявних у клітині енергетичних ресурсів, насамперед ліпідів. Енергетичні системи клітин водоростей за дії чинників

генерують необхідну для забезпечення адаптивних процесів кількість енергії шляхом додаткового синтезу жирних кислот, які залучаються до функціональних змін ліпідів клітинних мембран як енергетичних субстратів [88].

Встановлено [18], що інгібування йонами металів активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Гл-6-ФДГ) і, як наслідок, пентозофосфатного шляху (особливо  $Pb^{2+}$  і  $Cu^{2+}$ ) і гліколізу ( $Mn^{2+}$  і  $Cu^{2+}$ ), супроводжується зниженням утворення відновлених нікотинамідів та утворенням АТФ. Також встановлено спряжене функціонування Г-3-ФДГ та гліцерол-3-фосфат-ацилтрансферази (Г-3-ФАТ) за дії  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  та  $Cu^{2+}$ , коли у хлорели відбувається активація біосинтезу ліпідів із гліцерол-3-фосфату, ймовірно, це відбувається не лише шляхом окиснення глюкози, а й, наприклад, шляхом фосфорилування гліцеролу та ацетил-КоА завдяки перетворенню карбонових ланцюгів амінокислот, про що свідчить зміна співвідношення НАДН/НАДФН-глутаматдегідрогеназ за дії  $Zn^{2+}$  і  $Pb^{2+}$  на користь НАДН-ГТГ, що у водоростей є катаболічним ферментом і здійснює насамперед дезамінування білків до амінокислот [4, 18]. Зростання активності енергетичних ферментів — 2-оксоглутаратдегідрогенази (2-ОГДГ) за дії  $Zn^{2+}$  та  $Cu^{2+}$  і, особливо, значне зростання активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) за дії  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  і  $Zn^{2+}$  свідчить про активацію циклу Кребса, утворення відновлених нікотинамідів і генерування АТФ у ланцюгу окисного фосфорилування.

Активація метаболічних процесів у клітинах, спричинена формуванням механізмів детоксикації, супроводжується збільшенням використання АТФ і виснаженням енергетичних ресурсів клітини. Ймовірно, що саме з цим пов'язані активація фотосинтезу і дихання за впливу міді, заліза, срібла і золота на клітини *Chlorella vulgaris*, *Nostoc muscorum* і *Dunaliella salina* [1, 101].

Фотосинтетичний апарат клітин водоростей пов'язаний з ліпідним обміном як через енергетичний метаболізм, так і через часткову локалізацію біосинтезу ліпідів у хлоропластах [63, 86]. Підвищена активність фотосинтетичного апарату на рівні світлових реакцій визначає адаптивні перебудови у водоростей за несприятливих умов, оскільки первинні реакції оптимізують потік електронів та енергетичний баланс у клітинах. З одного боку, це забезпечує скидання надлишку енергії в умовах пристосувальної реакції при сповільненні інтенсивності росту, а з іншого — первинні фотосинтетичні реакції у цих умовах можуть бути пусковим механізмом регуляції співвідношення швидкостей світлових і темнових реакцій фотосинтезу, продукти якого і визначають подальшу ефективність адаптивних процесів [22, 25]. Так, на ранніх стадіях токсична дія важких металів на клітини водорості *Chlorella pyrenoidosa* проявляється не лише у гальмуванні електронного транспорту фотосистеми II, але й у зменшенні ступеня енергізації фотосинтетичних мембран, тобто у зниженні ефективності світлових реакцій фотосинтезу [22]. При цьому, одним з важливих шляхів формування стійкості водоростей при інтоксикації йонами металів є зміна активності ферментів, яка може відбуватися через синтез більш стійких до дії металів ізоформ [2]. Проте, зміна активності молекулярних форм ферментів під впливом стресорів різної природи спричиняє збій наступних реакцій, циклів і процесів. Так, за дії йонів свинцю відбувається активація ключового ферменту пентозофосфат-



ного циклу — Гл-6-ФДГ і пригнічення СДГ [23]. Очевидно, за тривалої інтоксикації свинцем у клітинах вмикаються механізми, спрямовані на відновлення вихідного метаболічного стану, або перемикають його на альтернативні шляхи функціонування. Отже, йони свинцю, гальмуючи активність ензимів циклу трикарбонових кислот і збіднюючи клітини енергетично, сприяють перемиканню на пентозофосфатний шлях дихання. Його активатором можуть бути як підвищення вмісту НАДФ<sup>+</sup>, так і нестача фосфату, що безпосередньо зумовлено дією йонів свинцю [7, 23]. При зростанні активності циклу Кребса за дії негативних зовнішніх чинників у рослин активується альтернативний шлях дихання [7], що забезпечує додаткове окиснення надлишку відновлених у циклі Кребса нікотинамідів і запобігає перебудові пулу убіхінону, який може стимулювати утворення вільних радикалів [100]. Це дозволяє розглядати альтернативний шлях дихання як специфічний адаптивний механізм.

У представників рр. *Coccoloba* і *Trebouxia* за дії міді і свинцю (10 мкМ) виявлено пригнічення включення [1-<sup>14</sup>C]ацетату у загальну фракцію неполярних ліпідів і відносне збільшення маркування триацилгліцеролів, що розглядається як відображення загальної токсичності важких металів для цих видів [49]. У *Chorella vulgaris* за дії Zn<sup>2+</sup> включення [1-<sup>14</sup>C]ацетату у ТАГ і ФЛ у цитоплазматичній фракції знижується на 16% і 1,2%, а у ДАГ — зростає на 27% порівняно з контролем, у НЕЖК — практично не змінюється [68]. Включення [1-<sup>14</sup>C]ацетату у ТАГ, ДАГ і ФЛ у цитоплазматичній фракції за дії Pb<sup>2+</sup> збільшується відповідно на 3, 5 і 30%, НЕЖК — зменшується на 12,5%. Отже, за дії йонів металів біосинтез ліпідів активується переважно у цитоплазматичній фракції. Однак Zn<sup>2+</sup> як біогенний метал посилює накопичення ДАГ, а Pb<sup>2+</sup> — ФЛ, що може бути пов'язано з різним механізмом їх дії [13]. У зв'язку з отриманими даними було вивчено стан хлоропластів [18], кількість яких за дії Zn<sup>2+</sup> збільшувалася у 8,5 разу відносно контролю, а за дії Pb<sup>2+</sup> — зменшувалася на 19%, а їх діаметр зменшувався відповідно на 63 і 6%. Йони Pb<sup>2+</sup> переважно впливають на ензимні системи біосинтезу ліпідів, оскільки як кількість хлоропластів, так і їх розміри незначно знижуються, а Zn<sup>2+</sup>, очевидно, впливають на структуру хлоропластів, змінюючи їх морфологію і інтенсивність утворення, оскільки їх кількість у клітинах значно зростає, що позначається на здатності до біосинтезу ліпідів. Встановлено [59], що у клітинах мезофіла кількість хлоропластів повільно знижується у процесі старіння, коли відбувається швидка деградація. Пожовтіле листя при цьому містить багаточисленні структури, що нагадують краплі жиру, аналогічно до клітин хлорели за дії Pb<sup>2+</sup>. Отримані результати можуть свідчити про вірогідну деградацію хлоропластів і за інтоксикації йонами металів — в них знижується утворення необхідних адаптивних ліпідів, а біосинтез ліпідів в ендоплазматичному ретикулюмі активується.

Відомо, що йони металів на молекулярному рівні у водоростей, як і у більшості організмів, впливають на сульфгідрильні групи білків, процеси заміщення йонів інших елементів та індукцію окисного стресу [81], у результаті чого зростає вміст активних форм кисню (АФК) і знижується антиоксидантний потенціал клітин. Ліпіди можуть окиснюватися завдяки дії пероксидних радикалів шляхом ензимного і неензимного окиснення жирних кислот з накопиченням насамперед окиснених похідних ліноленової (C18:2) та ейкозапентаєнової (C20:5) кислот [60]. Кисень і йони металів є активними

окисниками ліпідів [5], що супроводжується утворенням оксиліпінів за участі ліпоксигенази [33, 60] і змінами ліпідного обміну, про що свідчить активація ліпази, яка вивільняє жирні кислоти [33].

У загальній схемі механізму детоксикації важких металів за посередництвом III класу металтіонеїнів (MtIII) необхідну участь бере відновлений глутатіон, що підключається до детоксикаційного ланцюга на стадії конденсації з гама-глутамілцистеїном з утворенням їх комплексу з металом у складі металтіонеїну: комплекс металу у розчині → вільний йон металу → метал-біотичний екзоцелюлярний ліганд у цитоплазмі клітини + глутамінова кислота + цистеїн + гліцин → метал-гама-глутамілцистеїн → глутатіон-металовий комплекс → металтіонеїн з низькою молекулярною масою → металтіонеїн з високою молекулярною масою. На стадії утворення металтіонеїна глутатіон вивільняється, а отже потребує відновлення за участю глутатіонпероксидази, що узгоджується з її високою активністю за дії йонів металів [81].

Іншим механізмом реалізації антиоксидантних властивостей водоростей може бути включення селену до складу ліпідів, та «екранування» їх пероксидації. Йони металів можуть брати участь у реалізації цього механізму, сприяючи чи заважаючи [102].

Модифікація фізико-хімічними параметрами середовища дії йонів металів на склад і функціональні характеристики ліпідів у водоростей. Дія йонів металів на водорості суттєво модифікується іншими чинниками водного середовища [10, 27, 46], одним з яких є вміст розчиненого кисню. Споживання кисню передусім пов'язане з біологічними та хімічними процесами окиснення органічних та деяких неорганічних речовин ( $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $H_2S$ , тощо) і різко підвищується за інтоксикації, оскільки посилюються енерговитрати, пов'язані з адаптацією до токсикантів [9]. На фоні кисневого дефіциту інтоксикація розвивається особливо гостро. Найбільше це характерно для аеробних гідробіонтів, а анаероби є більш токсикорезистентними, бо переходять на енергетичне забезпечення завдяки гліколізу [53].

Пряму та опосередковану дію на ліпіди водоростей здійснює температура, яка у комплексі з іншими чинниками значно модифікує їх обмін. Дослідження зеленої водорості *Botryococcus braunii*, яка секретує позаклітинні ліпіди, за температури культивування 18°C (субоптимальна) і 32°C (супраоптимальна) показали зниження вмісту внутрішньоклітинних ліпідів з 22% сухої маси відповідно до 18 та 5%, тоді як при оптимальній температурі (25°C) він зріс на 7% від початкового [58]. Аналогічна закономірність спостерігалася у *Nannochloropsis oculata* та *Chlorella vulgaris*, для яких оптимальна температура росту  $25 \pm 2^\circ C$ , тому підвищення її від 20 до 25°C призвело до зростання вмісту ліпідів у *N. oculata* з 7,9 до 15,0% сухої маси, однак, подальше підвищення температури культивування до 30°C зумовило зниження вмісту ліпідів у *Ch. vulgaris* з 14,7 до 5,9% [39].

Зі зміною температурних режимів існування відбуваються зміни рівня ненасиченості жирних кислот у ліпідному складі мембран [46, 63, 99]. Такі перебудови спрямовані насамперед на підтримання рухливості мембран та запобігання їх перетворення у гель: втраті в'язкості, проникності, рухли-



вості окремих компонентів [66], а отже і їх проникності для йонів металів. При дослідженні восьми видів морських планктонних водоростей при зміні температури від 10°C до 25°C вміст жирних кислот (14:0) у клітинах зростає з 4 до  $20 \cdot 10^{-12}$  г/клітину, у той час як вміст поліненасичених був високим лише за низької температури (10°C) [98].

Опосередкований вплив температури на ліпіди водоростей здійснюється через регуляцію оксидативних процесів. Високі температури активують пероксидне окиснення так само, як і важкі метали, тому оксидативна токсичність останніх за підвищення температури зростає [26]. Водночас, існування водоростей при нижчих температурах зменшує плинність клітинних мембран, а за рахунок збільшення кількості ненасичених жирних кислот вона зростає, що також сприяє стійкості мембран до пошкодження вільними радикалами і захищає тилакоїдні мембрани фотосинтетичного апарату від фотоінгібування [77].

Цікавим є той факт, що при підвищенні температури середовища існування водоростей зростає і кількість каротиноїдів, які захищають хлорофіл від фотостаріння, беруть участь у передачі енергії і захищають реакційний центр від автоокиснення [65].

До чинників, що впливають на активність біосинтезу ліпідів, також відносять інтенсивність освітлення, довжину хвиль падаючого світла і тривалість опромінення. Нестача або надлишок світла для розвитку водоростей проявляється насамперед у порушенні функціонування фотосинтетичного апарату, що відображається на всьому комплексі метаболічних перетворень, зокрема на ростових показниках і накопиченні біомаси [12]. При культивуванні *Dunaliella viridis* при відсутності світла зростає загальний вміст ліпідів, а ТАГ і вільних жирних кислот — зменшується. Низька інтенсивність освітлення індукує біосинтез полярних, особливо мембранних, ліпідів хлоропластів, у той час як висока зменшує загальний вміст полярних ліпідів з одночасним зростанням кількості нейтральних, переважно ТАГ [35, 75]. Зі збільшенням інтенсивності світла при вирощуванні *Dunaliella tertiolecta* знижується вміст білків, а ліпідів — збільшується [35]. Однак встановлено, що висока інтенсивність освітлення призводить до окиснювального пошкодження поліненасичених жирних кислот і до зміни рівня необхідних для біосинтезу ліпідів жирних кислот (С16:1(3)) [38, 63]. Зниження інтенсивності світла призводить до високого вмісту ліпідів і ейкозапентаєнової кислоти [94]. Проте існують суперечливі дані про зростання вмісту поліненасичених жирних кислот із збільшенням освітленості [74].

Вагомий вплив на водорості має концентрація йонів водню, яка визначає наявність та розчинність CO<sub>2</sub> і форму знаходження переважної більшості розчинених сполук [11]. При високих значеннях рН зростає гнучкість клітинної стінки, що запобігає її розривам і уповільненню вивільнення автоспор, тим самим збільшуючи час завершення клітинного циклу, а також сприяє накопиченню ТАГ та зниженню вмісту асоційованих з мембранами полярних ліпідів [47].

Деякі водорості, наприклад *Dunaliella acidophila*, адаптувалися до кислого середовища шляхом накопичення гліцерину для запобігання осмотичного

дисбалансу, викликаного високою концентрацією  $H_2SO_4$  [43]. При вирощуванні у кислому середовищі (рН = 1) такі види, як *Chlamydomonas* sp. і *Pinnularia braunii* інтенсивно накопичують ТАГ [97].

Ще одним способом пристосування до умов кислого середовища є збільшення вмісту насичених жирних кислот [97]. Так, при культивуванні *Chlamydomonas* sp. при різному рН загальний вміст жирних кислот при рН = 2,7 збільшувався на 2%, а при рН = 7 — на 2,4% [82]. При культивуванні у лужному середовищі штаму *Chlorella CHLOR1* також накопичувались ТАГ, а кількість мембранних ліпідів зменшувалась [47].

Кислотність середовища суттєво модифікує дію йонів металів, оскільки змінює розчинність їх солей. Так, у кислому середовищі більшість сполук металів добре розчинні і знаходяться у йонному стані, отже рухливі і метаболічно активні, а у лужному переважає більшість йонів ( $Cd$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ) утворюють менш розчинні гідроксоколі або осаджуються у вигляді гідроксидів (при високих значеннях рН) [20].

Сольовий склад є ще одним важливим чинником, який змінює самотійно та модифікує вплив йонів важких металів на біохімічний склад клітин водоростей. Підвищення концентрації  $NaCl$  від 0,5 М до 1,0 М сприяло збільшенню внутрішньоклітинного вмісту ліпідів у *Dunaliella* з 60% до 67% [95]. Вплив солей залежить від фази росту клітин, наприклад, додавання 1,0 М  $NaCl$  у середині або наприкінці лог-фази культивування сприяло збільшенню вмісту ліпідів до 70% [95]. Зі збільшенням концентрації  $NaCl$  від 0,4 до 4,0 М у *Dunaliella* спостерігали зростання вмісту насичених і мононенасичених жирних кислот [105].

Досліджували накопичення ліпідів у *Chlorella pyrenoidosa* при культивуванні у різноманітних середовищах з дефіцитом нітрогену, фосфору і феруму [42]. Найбільш помітно кількість загальних і нейтральних ліпідів зростала при нестачі нітрогену — відповідно до 50 і 34% сухої маси клітин. N-голодування призводило до зростання вмісту ліпідів, переважно ТАГ, у *Chlorella vulgaris* до 40% порівняно з клітинами, що виростили у середовищі з низькою концентрацією нітрогену [56]. Відсутність або дефіцит нітрогену у середовищі культивування разом із зниженням температури стимулюють нагромадження поліненасичених жирних кислот [69, 91]. У діатомових водоростей зростання активності біосинтезу n-3 поліненасичених жирних кислот сприяє достатній кількості силікатів [91]. Вміст жирних кислот у клітинах *Euglena gracilis* зростає при їх вирощування у середовищі з дефіцитом  $Mn^{2+}$  [54].

У *Chlorella kessleri* дефіцит фосфору сприяв підвищенню рівня ненасичених кислот в усіх виявлених в результаті дослідження ліпідів (фосфатидилхоліну, фосфатидилгліцеролу, дигалактозилдіацилгліцеролу, моногалактозилдіацилгліцеролу) [41].

При дефіциті сірки у чотирьох видів хлорели вміст крохмалю зменшується з послідовним збільшенням вторинних продуктів зберігання у формі ліпідів [73]. Цей перехід від первинного продукту зберігання вуглецю (крохмалу) до вторинного (ліпіди, зокрема ТАГ) пояснюють тим, що ліпіди

містять у своєму складі переважно насичені і мононенасичені жирні кислоти, які ефективно упаковані у клітині і генерують більше енергії при окисненні, ніж крохмаль [84].

За допомогою хроматографічного аналізу селенвмісних ліпідів, виділених з *Dunaliella primolecta* і *Porphyridium cruentum*, вирощених у присутності високих (сублетальних) концентрацій Se (IV) показана присутність селену у всіх ліпідних фракціях, за винятком насичених жирних кислот [44]. Встановлено взаємопов'язаний вплив селеніту та йонів металів. Вміст селену у ліпідах *Chlorella vulgaris* за спільної дії селеніту з  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$  зріс відповідно на 69,5, 174,1, 249,9, 28,3 і 126,5% відносно контролю [5, 32]. Зростання інтенсивності включення селену до складу ліпідів різних класів відбувається у ряду: ЛФЛ < ТАГ < ДАГ < ФЛ < НЕЖК [102]. При цьому селеніт натрію зумовив зменшення вмісту 16:0 та збільшення 18:0 і 18:1 жирних кислот. Переважання насичених жирних кислот над ненасиченими виявлено за його спільної дії з  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{3+}$ , а за дії окремо та спільної з  $\text{Zn}^{2+}$  — ненасичених над насиченим [102].

Змінюючи склад мінерального середовища культивування водоростей або використовуючи інші фізико-хімічні впливи, можна регулювати інтенсивність та спрямованість біосинтезу ліпідів, співвідношення їх окремих класів та жирнокислотного складу, що важливо для біотехнології керованого отримання корисних водоростевих продуктів [17, 54, 78,79, 103].

Отже, здатність водоростей адаптуватися до дії несприятливих чинників у середовищі без порушення фізіологічних функцій тісно пов'язана із активацією метаболічних систем, змінами на структурному та функціональному рівнях, регуляторних механізмів, коли кожний із них діє окремо, разом з тим одночасно і узгоджено, і складається із послідовної системи: мембранна і постмембранна регуляція транспорту у клітину → окремі ензимні адаптації → адаптивні перебудови метаболічних систем на ензим-субстратному та регуляторному рівнях → модифікація у клітинах різновидностей наявних і синтез нових молекул і «протекторних» сполук з «металтіонеїновими» властивостями → формування фено- і генотипової резистентності окремих клітин та нового рівня популяційної витривалості видів [46]. Завдяки цьому мікрководорості є надзвичайно зручними для цілеспрямованого отримання біодобавок, фармацевтичних препаратів, біодизелю та у кормовиробництві. Вони мають великий потенціал завдяки швидкому росту та ефективному накопиченню ліпідів [28, 90]. За допомогою вище наведених чинників можна регулювати інтенсивність та спрямованість біосинтезу їх ліпідних компонентів. Середній вміст ліпідів у клітинах водоростей коливається від 1 до 70%, зокрема у *Chlorella vulgaris* — у межах 14—22% маси сухої речовини [39]. Проте за певних несприятливих або стресових умов вміст ліпідів у деяких видів може збільшуватися до 70% [53] і навіть 90% сухої маси [71].

Останнім часом для отримання біологічно активних добавок (БАД) і фармацевтичних препаратів використовують ліофілізовані клітини водоростей і екстракти з них [52]. Досить добре зарекомендували себе препарати з хлорели *Chlorella vulgaris*, яка є не лише джерелом біологічно доступного хлорофілу, низки вітамінів, амінокислот тощо, а й жирних кислот, що мають антиоксидантний і антисклеротичний ефекти [37]. Значний інтерес становлять

комплекси селену і металів, які надходять у харчові ланцюги людини і тварин через рослини і відіграють важливу роль у метаболізмі, що порушується за їх дефіциту [6, 15, 16, 89]. Відомий препарат водоростевого походження «Селен-Спіруліна» є висушеними і подрібненими клітинами цієї водорості, характеризується нестабільним вмістом селену та йонів металів, а, оскільки не є очищеним, то містить білки, вторинні метаболіти, що здатні викликати алергенний ефект (наприклад, окремі ЛФЛ і феофітини, які можуть утворюватися за нестабільних умов культивування).

Нами отримано селенліпідний та селенцинкліпідний комплекси, при введенні яких у дозі 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів на 1 мл 1%-ної водно-крохмальної суспензії в організмі здорових щурів (печінці і сироватці крові) пригнічувалися прооксидантні процеси, активізувалися антиоксидантні процеси, СДГ та ЦО, глутаматдегідрогеназний шлях утворення глутамату, що сприяє успішному функціонуванню антиоксидантної системи та підтриманню енергетичного і метаболічного гомеостазу в організмі і є підставою для подальших досліджень біологічної активності отриманих комплексів як перспективних лікувально-профілактичних субстанцій [6, 21].

### *Заклучення*

Отже, складовими стрес-адаптаційного синдрому водоростей до дії сполук металів як окремо, так і в умовах модифікації іншими факторами середовища, є мембранна регуляція, що забезпечує адаптивний статус клітин на структурно-функціональному рівні та активності клітинних оболонки, забезпечуючи обмеження надходження металів до клітини та зменшення їх рецепторно-месенджерного впливу; зміни спрямування та інтенсивності ліпідного і суміжного з ним енергетичного метаболізму; зміни співвідношення окремих класів ліпідів унаслідок посилення ролі їх адаптивних форм у функціонуванні компартментів клітин, що супроводжується активацією їх утворення у цитоплазмі порівняно з хлоропластами; модифікація пероксидного окиснення ліпідів як активного компоненту антиоксидантного захисту; загальна зміна метаболізму, спрямована на формування нового рівня адаптивного статусу організму у стресових умовах.

Вивчення фізіолого-біохімічних реакцій ліпідної системи водоростей і їх накопичення при різних стресах може розглядатися як актуальна практична проблема [93], оскільки інтерес до ліпідів мікрководоростей визначається їх високим потенціалом як біопалива [55], одним з найважливіших переваг якого є те, що при його горінні утворюється на 78% менше CO<sub>2</sub> та на 98% менше сполук сірки, ніж при спалюванні палив, отриманих з нафти і газу. Крім того, промислове вирощування мікрководоростей відкриває широкі можливості для використання CO<sub>2</sub> та стічних вод, що містять органічні і мінеральні забруднювачі. Важливо, що виробництво біопалива з мікрководоростей не вимагає використання орних земель, які є необхідними для вирощування сільськогосподарських культур [80, 92].

Ліпіди деяких видів мікрководоростей збагачені цінними поліненасиченими жирними кислотами, у тому числі ефірними, серед яких важливими для людини є лінолева (18:2), α-ліноленова (18:3), арахідонова (20:4), ейкозапентаєнова (20:5), декозогексаєнова (22:6) тощо [36]. Водоростеві ліпіди є необхідною складовою раціону водних організмів [34], слугуючи джерелом будівельних блоків для

клітинних мембран і субстратом для біосинтезу сигнальних і регуляторних молекул, а також можуть мати протизапальний, антиоксидантний і терапевтичний ефект [6, 15, 16, 52].

У зв'язку з практичними перспективами водоростевих ліпідів важливо віднайти засоби або чинники стимулювання їх накопичення у клітинах водоростей та керування біосинтезом окремих класів цих сполук. Як видно із проаналізованого матеріалу, це властиво деяким металам за певних концентрацій та умов використання. При цьому перспективним також залишається маловивчений напрямок участі металів у генній модифікації водоростей, що почав розвиватися інтенсивно і може суттєво збільшити ефективність цього процесу шляхом оптимізації гомологічної рекомбінації для спрямованого нокауту ферментів вуглеводного біосинтезу та експресії більш ефективних ізоєзимів, що відповідають за утворення ліпідів [48].

\*\*

*Проанализированы современные представления о физиолого-биохимическом статусе и ответе липидной системы водорослей при воздействии ионов металлов. Показано, что составляющими стресс-адаптивного синдрома водорослей к воздействию соединений металлов как отдельно, так и при модифицирующем влиянии других факторов среды, являются изменения структуры и липидного состава клеточных мембран, изменения направленности и интенсивности липидного и сопряженного с ним энергетического обмена, изменения соотношения отдельных классов липидов, общее изменение метаболизма, направленное на формирование нового уровня адаптационного статуса организма в стрессовых условиях.*

\*\*

*Modern ideas on physiological-biochemical status and responses of the lipid system of algae under the impact of metal ions have been analyzed. It was shown that stress-adaptation syndrome of algae to the the metal compounds both individual and under modification by other environmental factors comprises: changes of structure and lipid composition of the cell membranes, changes of direction and intensity of the lipid and associated energy metabolism, changes of ratio of individual lipids' classes, modification of the lipids peroxidation, general metabolism modification aimed at forming of new level of the adaptive status under the stress conditions.*

\*\*

1. Багнюк В.М., Миронюк В.И., Погорванов В.В. и др. Особенности взаимодействия металлов с водорослями *Chlorella vulgaris* // Доп. НАН України. — 1997. — № 11. — С. 155—159.
2. Базелян В.Л., Коломийченко Г.Ю., Семенова О.А. Биохимические механизмы адаптации одноклеточных водорослей к тяжелым металлам // Современные проблемы гидробиологии. Перспективы, пути и методы исследований. — Херсон, 2006. — С. 19—22.
3. Басова М.М. Жирнокислотный состав липидов некоторых видов микроводорослей // Альгология. — 2005. — Т. 15, № 4. — С. 415—436.
4. Богнар О.І. Адаптивні властивості водоростей за дії йонів металів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 2008. — 22 с.
5. Богнар О.І., Вінярська Г.Б., Грубінко В.В. Оксидативний статус *Chlorella vulgaris* за дії селеніту натрію окремо та спільно з йонами металів //

- Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal). — 2016. — Vol. 1. — P. 5—11.
6. Вінярська Г.Б., Лихацький П.Г., Богнар О.І. та ін. Вплив селен-цинк-ліпідної субстанції з *Chlorella vulgaris* Bieј. на оксидативний та енергетичний статус щурів // Мед. клін. хімія. — 2015. — Т. 17, № 4. — С. 10—17.
  7. Головка Т.К. Дыхание растений: физиологические аспекты. — СПб.: Наука, 1999. — 204 с
  8. Горбунов М. Ю. Особенности действия металлов на организмы фитопланктона в культуре и природной среде // Фундаментальные и прикладные аспекты функционирования водных экосистем: проблемы и перспективы гидробиологии и ихтиологии в XXI веке. — Саратов, 2001. — С. 243—246.
  9. Грубінко В.В. Принципи описання стану біо-, еко- систем // Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2010. — № 2. — С. 123—136.
  10. Грубінко В.В. Роль металів в адаптації гідробіонтів: еволюційно-екологічні аспекти: огляд // Там же. — 2011. — № 2. — С. 237—261.
  11. Дмитриева А.Г., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л. Физиология растительных организмов и роль металлов. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 2002. — 160 с.
  12. Козицкая В.Н. Влияние экологических факторов (освещение, температура) на рост водорослей (обзор) // Гидробиол. журн. — 1989. — Т. 25, № 6. — С. 55—68.
  13. Костюк К.В. Структурно-функціональні реакції клітин водних рослин на дію токсикантів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — К., 2011. — 21 с.
  14. Лебегева А.Ф., Саванина Я.В., Барский Е.Л., Гусев М.В. Устойчивость цианобактерий и микроводорослей к действию тяжелых металлов: роль металлсвязующих белков // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. — 1998. — № 2. — С. 42—48.
  15. Лукашів О.Я., Богнар О.І., Вінярська Г.Б., Грубінко В.В. Вплив селен-хром-ліпідної субстанції із *Chlorella vulgaris* Bieј. на оксидативний статус щурів // Мед. клін. хімія. — 2016. — Т. 18, № 2. — С. 28—33.
  16. Лукашів О.Я., Богнар О.І., Грубінко В.В. Вплив на метаболічні процеси в організмі селеновмісних біодобавок та перспективи їх використання // Вісн. проблем біології і медицини. — 2016. — Т. 3, Вип. 2. — С. 30—34.
  17. Луців А.И. Изменение интенсивности биосинтеза липидов у *Chlorella vulgaris* Вејег. при действии токсикантов // IV Междунар. конф. «Актуальные проблемы современной альгологии». — Киев, 2012. — С. 177—178.
  18. Луців А.І. Регуляція біосинтезу ліпідів у *Chlorella vulgaris* Вејег. йонами металів та нафто-продуктами: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Тернопіль, 2015. — 21 с.
  19. Мосин О.В. О феномене клеточной адаптации к тяжелой воде [Электронный ресурс] / Режим доступа: [htth:// www.gaudeamus.omskcity](http://www.gaudeamus.omskcity).
  20. Осадчий В.І., Набиванець Б.Й., Линник П.М. Процеси формування хімічного складу поверхневих вод. — К.: Ніка-Центр, 2013. — 239 с.
  21. Патент України, А61К36/05. Спосіб отримання біологічно активного селен-цинк-ліпідного комплексу з хлорели / Богнар О.І., Вінярська Г.Б., Грубінко В.В., Лихацький П.Г., Фіра Л.С. — № 114650, заявл. 12.10.2016; опубл. 10.03.2017, Бюл. № 5. — 3 с.



22. Плеханов С.Е., Чемерис Ю.К. Ранние эффекты токсического действия цинка, кобальта, кадмия на фотосинтетическую активность водоросли *Chlorella pyrenoidosa* Chick-S-39 // Известия РАН. Сер. биол. — 2003. — № 5. — С. 610—616.
23. Речевська Н.Я., Демків Л.О. Вплив плюмбуму на активність внутрішньоклітинного метаболізму і його регуляція // Вісн. Львів. держ. ун-ту. Сер. біологічна. — 1997. — Вип. 24. — С. 58—61.
24. Саванина Я.В., Лебедева А.Ф., Гусев М.В. Микроводоросли и цианобактерии: устойчивость к действию тяжелых металлов // Вестн. Моск. гос. ун-та. Сер. 16. Биология. — 2001. — № 3. — С. 14—24.
25. Чемерис Ю.К., Шенгерова Л.В., Лядский В.В., Венедиктов П.С. Связь инактивации ФС II с накоплением продуктов фотосинтетического метаболизма при азотном голодании клеток хлореллы // Физиол. растений. — 1990. — Т. 37, № 2. — С. 668—673.
26. Abrahamsson K., Choo K.S., Pedersen M., et al. Effects of temperature on the production of hydrogen peroxide and volatile halocarbons by brackish-water algae // Phytochemistry. — 2003. — Vol. 64. — P. 725—734.
27. *Algal Chemical Ecology* / Ed. by Ch. D. Amsler. — Berlin; Heidelberg; Springer Verlag, 2008. — 313 p.
28. Aullon A. Biodiesel from microalgae. — Stockholm, 2010. — 92 p.
29. Behrens P.W., Kyle D.J. Microalgae as a source of fatty acids // J. Food Lipids. — 1996. — Vol. 3, N 4. — P. 259—272.
30. Bigogno C., Khozin-Goldberg I., Cohen Z. Accumulation of arachidonic acid rich triacylglycerols in the microalga *Parietochloris incisa* (Trebuxiophyceae, Chlorophyta) // Phytochemistry. — 2002. — Vol. 60. — P. 135—143.
31. Bijlsma R., Loeschcke V. Environmental stress, adaptation and evolution: an overview // J. Evol. Biol. — 2005. — Vol. 18. — P. 744—749.
32. Bodnar O.I., Vinyarska G.B., Stanislavchuk G.V., Grubinko V.V. Peculiarities of selenium accumulation and its biological role in algae // Hydrobiol. J. — 2015. — Vol. 51, N 1. — P. 63—78.
33. Bouarab K., Adas F., Gaquerel E. et al. The innate immunity of a marine red alga involves oxylipins from both the eicosanoid and octadecanoid pathways // Plant Physiol. — 2004. — Vol. 135. — P. 1838—1848.
34. Brett M., Miller, N.D. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes // Freshwater Biol. — 1997. — Vol. 38. — P. 483—499.
35. Brown M.R., Dunstan G.A., Norwood S.J., Miller K.A. Effects of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana* // J. Phycol. — 1996. — Vol. 32. — P. 64—73.
36. Cardozo K., Guaratini T., Barros M.P. et al. Metabolites from algae with economic impact // Comp. Biochem. Physiol. Toxicol. Pharmacol. — 2007. — Vol. 146. — P. 60—78.
37. Chovancikova M., Simek V. Effects of high-fat and *Chlorella vulgaris* feeding on changes in lipid metabolism in mice // Biologia (Bratislava). — 2001. — Vol. 56, N 6. — P. 661—666.
38. Cohen Z. *Porphyridium cruentum* // Chemicals from Microalgae. — Boca Raton: CRC Press, 1999. — P. 1—24.
39. Converti A., Casazza A.A., Ortiz E.Y. et al. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production // Chem. Eng. Process. — 2009. — N 48. — P. 1146—1151.

40. Einicker-Lamas M., Mezian G.A., Fernandes T.B. et al. *Euglena gracilis* as a model for the study of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  toxicity and accumulation in eukaryotic cells // Environ. Pollut. — 2002. — N 120. — P. 779—786.
41. El-Sheek M.M. Effect of phosphorus starvation on growth, photosynthesis and some metabolic processes in the unicellular green alga *Chlorella kessleri* // Phyton. — 1995. — Vol. 35. — P. 139—151.
42. Fan J., Cui M., Wan W. et al. Lipid accumulation and biosynthesis genes response of the oleaginous *Chlorella pyrenoidosa* under three nutrition stressors // Biotechnol. Biofuels. — 2014. — N 7. — P. 17.
43. Fuggi A., Pinto G., Pollio A. et al. The role of glycerol in osmoregulation of the acidophilic alga *Dunaliella acidophila* (Volvocales, Chlorophyta): Effect of solute stress on photosynthesis, respiration and glycerol synthesis // Phycologia. — 1988. — Vol. 27. — P. 439—446.
44. Gennity J.M., Bottino R., Zingaro A. The binding of selenium to the lipids of two unicellular marine algae // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1984. — Vol. 118, N 1. — P. 176—182.
45. Grubinko V., Lutsiv A., Kostyuk K. Structural reconstruction of a membrane at absorption of  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , and  $\text{Pb}^{2+}$  with green algae *Chlorella vulgaris* Beij. // Heavy metal pollutants and other pollutants in the environment. Biological aspects. — Waretown: Apple Academic Press, 2017. — P. 273—291.
46. Grubinko V.V., Gorda A.I., Bodnar O.I. et al. Metabolism of algae under the impact of metal ions of the aquatic medium (a review) // Hydrobiol. J. — 2011. — Vol. 47, N 6. — P. 75—88.
47. Guckert J.B., Cooksey K.E. Triglyceride accumulation and fatty acid profile changes in *Chlorella* (Chlorophyta) during high pH-induced cell cycle inhibition // J. Phycol. — 1990. — Vol. 26. — P. 72—79.
48. Gumpel N.J., Rochaix J.D., Purton S. Studies on homologous recombination in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // Curr. Genet. — 1994. — Vol. 26, N 5—6. — P. 438—442.
49. Guschina I.A., Harwood J.L. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae // Prog. Lip. Res. — 2006. — Vol. 45. — P. 160—186.
50. Guschina I.A., Harwood J.L. Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry // Lipids in Aquatic Ecosystems. — Berlin: Springer, 2009. — P. 1—24.
51. Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology / Ed. A. Richmond, Q. Hu. — Oxford: John Wiley & Sons, 2013. — 726 p.
52. Hemaiswarya S., Raja R., Ravi K. et al. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture // World J. Microbiol. Biotech. — 2011. — Vol. 27, N 8. — P. 1737—1746.
53. Hochachka P.W., Somero G.N. Biochemical Adaptation: mechanism and process in physiological evolution. — New York; London: Oxford Univ. Press, 2002. — 466 p.
54. Howe P., Malcolm H., Dobson S. Manganese and its compounds: environmental aspects. — Geneva: World Health Organization, 2004. — 70 p.
55. Hu Q., Sommerfield M., Jarvis E. et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances // Plant J. — 2008. — Vol. 54. — P. 621—639.
56. Illman A.M., Scragg A.H., Shales S.W. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium // Enzyme Microb. Technol. — 2000. — Vol. 27. — P. 631—635.

57. Ivanova A., Nechew J., Khotimchenko S. et al. Effect of leads ions on the phospholipids composition of the freshwater alga *Cladophora glomerata* // Докл. БЪЛГ. АН. — 2003. — Vol. 56, N 5. — P. 65—68.
58. Kalacheva G., Zhila N., Volova T. et al. The effect of temperature on the lipid composition of the green alga *Botryococcus* // Microbiology. — 2002. — N 71. — P. 286—293.
59. Kiyomi O., Hashimoto H., Katoh S. Changes in the number and size of chloroplasts during senescence of primary leaves of wheat grown under different conditions // Plant and Cell Physiol. — 1994. — Vol. 36, N 1. — P. 9—17.
60. Kupper F.C., Gaquerel E., Boneberg E.-M. et al. Early events in the perception of lipopolysaccharides in the brown alga *Laminaria digitata* include an oxidative burst and activation of fatty acid oxidation cascades // J. Exp. Bot.— 2006. — Vol. 57. — P. 1991—1999.
61. Leliaert F., Smith D.R., Moreau H. et al. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. Critical reviews // Plant Sci. — 2012. — N 31. — P. 1—46.
62. Lionetto M.G., Giordano M.E., Vilella T.S. Inhibition of eel enzymatic activities by cadmium // Aquat. Toxicol. — 2000. — Vol. 48, N 4. — P. 561—571.
63. *Lipids in Photosynthesis: structure, function and genetics* / Ed. by P. Siegenthaler, N. Murata. — Berlin: Springer, 2004. — 321 p.
64. Liu Z.Y., Wang G.C., Zhou B.C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris* // Bioresour. Technol. — 2008. — Vol. 99. — P. 4717—4722.
65. Liu B.H., Lee Y.K. Secondary carotenoids formation by the green alga *Chlorococcum* sp. // J. Appl. Phycol. — 2000. — N 12. — P. 301—307.
66. Los D.A., Murata N. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals // Biochim. Biophys. Acta. — 2004. — Vol. 1666. — P. 142—157.
67. Lutsiv A.I., Grubinko V.V. Absorption of ions  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  by cells of *Chlorella vulgaris* Beijer. // Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2012. — № 3. — С. 42—49.
68. Lutsiv A.I., Grubinko V.V. Localization of the lipids' synthesis in *Chlorella vulgaris* under the impact of lead and zinc ions and diesel fuel // Hydrobiol. J. — 2012. — Vol. 48, N 6. — P. 95—106.
69. Makrides M., Neumann M., Simmer K. et al. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? // Lancet. — 1995. — Vol. 345, N 8963. — P. 1463—1468.
70. Marsalek B., Rojickova R. Stress factors enhancing production of algal exudates: a potential self-protective mechanism? // Zeitschrift fur Naturforschung. — 1996. — Vol. 51, N 9—10. — P. 646—650.
71. Metting F.B. Biodiversity and application of microalgae // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. — 1996. — Vol. 17, N 5—6. — P. 477—489.
72. Miller M., Zehnder A., Escher B.I. Membrane toxicity of linear alcohol // Environ. Toxicol. Chem. — 1999. — Vol. 18, N 12. — P. 2767—2774.
73. Mizuno Y., Sato A., Watanabe A. et al. Sequential accumulation of starch and lipid induced by sulfur deficiency in *Chlorella* and *Parachlorella species* // Bioresour. Technol. — 2013. — Vol. 129. — P. 150—155.
74. Molina G., Camacho G., Fernandez A. Production of EPA from *Phaeodactylum tricornutum* // Chemicals from microalgae. — Boca Raton: CRC Press, 1999. — P. 57—92.

75. *Napolitano G.E.* The relationship of lipids with light and chlorophyll measurements in freshwater algae and periphyton // *J. Phycol.* — 1994. — Vol. 30. — P. 943—950.
76. *Nikinmaa M.* An introduction to aquatic toxicology. — Acad. Press, 2014. — 252 p.
77. *Nishida I., Murata N.* Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids // *Ann. Rev. Plant Biol.* — 1996. — Vol. 47. — P. 541—568.
78. *Ochiai E.E.* Toxicity of heavy metals and biological defense: principles and application in bioinorganic chemistry // *J. Chem. Educ.* — 1995. — Vol. 72, N 2. — P. 479—484.
79. *Ostroumov S.A.* Concepts of biochemical ecology and hydrobiology: ecological chemomediators // *Contemp. Problems of Ecol.* — 2008. — Vol. 1, N 2. — P. 238—244.
80. *Park J.M., Craggs R.J., Shilton A.N.* Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production // *Bioresour. Technol.* — 2011. — Vol. 102. — P. 35—42.
81. *Perales-Vela H.V., Pena-Castro J.M., Canizares-Villanueva R.O.* Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae // *Chemosphere.* — 2006. — Vol. 64. — P. 1—10.
82. *Poerschmann J., Spijkerman E., Langer U.* Fatty acid patterns in *Chlamydomonas* sp. as a marker for nutritional regimes and temperature under extremely acidic conditions // *Microb. Ecol.* — 2004. — N 48. — P. 78—89.
83. *Rijstenbil J.W., Sandee A., Van Drie J. et al.* Interaction of toxic trace metals and mechanisms of detoxication in the planktonic diatoms *Ditylum brightwellii* and *Thalassiosira pseudonana* // *FEMS Microbiol. Rev.* — 1994. — Vol. 14, N 4. — P. 387—396.
84. *Roessler P.* Environmental control on glycerolipid metabolism in microalgae: commercial implications and future research directions // *J. Phycol.* — 1990. — Vol. 26, N 3. — P. 393—399.
85. *Roy J., Delcarpio J.* Double membrane-bounded intestinal microvilli in *Oncopectus fasciatus* // *Cell and Tissue Res.* — 1983. — Vol. 232, N 3. — P. 593—600.
86. *Rozentsvet O.A., Bosenko E.S., Guschina I.A.* Effect of heavy metals upon lipid metabolism in *P. perfoliatus* // 16th Intern. Plant Lipid symposium. — Budapest, 2004. — P. 202—204.
87. *Sato N, Tsuzuki M, Kawaguchi A.* Glycerolipid synthesis in *Chlorella kessleri* 11h I. Existence of a eukaryotic pathway // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2003. — N 1633. — P. 27—34.
88. *Schmid K.M., Ohlrogge J.B.* Lipid metabolism in plants // *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes.* — Elsevier Sci., 2002. — P. 93—126.
89. *Selenium* // *Alternative Med. Rev.* — 2003. — Vol. 8, N 1. — P. 63—71.
90. *Sheehan J.* A look back at the U.S. Department of energy's aquatic species program / *Biodiesel from algae.* — Colorado: The National Renewable Energy Laboratory, 1998. — 296 p.
91. *Shifrin N.S., Chisholm S.W.* Phytoplankton lipids: Interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles // *J. Phycol.* — 1981. — Vol. 17, N 3. — P. 374—384.
92. *Singh A., Nigam P.S., Murphy J.D.* Mechanism and challenges in commercialization of algal biofuels // *Bioresour. Technol.* — 2011. — Vol. 102. — P. 26—34.

93. Solovchenko A.E. Physiological role of neutral lipid accumulation in eukaryotic microalgae under stresses // Rus. J. Plant Physiol. — 2012. — Vol. 59, N 2. — P. 167—176.
94. Sukenik A., Carmeli Y., Berner T. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. // J. Phycol. — 1989. — Vol. 25. — P. 686—692.
95. Takagi M., Yoshida T. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells // J. Biosci. Bioeng. — 2006. — Vol. 101. — P. 223—226.
96. Tanaka N., Che F.-S., Watanabe N. et al. Flagellin from an incompatible strain of *Acidovorax avenae* mediates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation accompanying hypersensitive cell death and expression of PAL, Cht-I, and PBZI, but not LOX in rice // Mol. Plant-Microbe Interact. — 2003. — Vol. 16. — P. 422—428.
97. Tatsuzawa H., Takizawa E., Wada M. et al. Fatty acid and lipid composition of the acidophilic green alga *Chlamydomonas* sp. // J. Phycol. — 1996. — Vol. 32. — P. 598—601.
98. Thompson P.A., Guo M., Harrison P.J. Effects of variation in temperature. I. On the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton // Ibid. — 1992. — Vol. 28. — P. 481—488.
99. Thompson G.A. Lipids and membrane function in green algae // Biochim. Biophys. Acta. — 1996. — Vol. 1302. — P. 17—45.
100. Vanlerbergh G.C., McIntosh L.J., Yip Y. Molecular localization of a redox-modulated process regulating plant mitochondrial electron transport // Plant Cell. — 1998. — Vol. 10, N 9. — P. 1551—1560.
101. Verma S.K., Singh S.P. Multiple metal resistance in the cyanobacterium *Nostoc muscorum* // Bull. Environ. Contam. Toxicol. — 1995. — Vol. 54. — P. 614—619.
102. Viniarska H.B., Bodnar O.I., Stanislavchuk A.V. et al. Regulation of formation of selenium-lipid complex in *Chlorella vulgaris* Beij. (CHLOROPHYTA) in culture // Plants under global and local natural-climatic and human impacts: The VIII Congress of the Rus. Soc. Plant Physiol. — Petrozavodsk: Karelian Research Centre of RAS, 2015. — P. 105.
103. Wang L., Zhou Q., Chua H. Contribution of cell outer membrane and inner membrane to Cu<sup>2+</sup> adsorption by cell envelope of *Pseudomonas putida* // J. Environ. Sci. Health. Part A. — 2004. — Vol. 39, N 8. — P. 2071—2080.
104. World Water Development Report 2016. [Электронный ресурс]: <http://www.unwater.org/publications/publications-detail/en/c/396246/>.
105. Xu X.Q., Beardall J. Effect of salinity on fatty acid composition of a green microalga from an antarctic hypersaline lake // Phytochemistry. — 1997. — N 45. — P. 655—658.
106. Yang J., Cao J., Xing G. et al. Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341 // Biores. Technol. — 2014. — Vol. 175. — P. 537—544.