

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ

НЕЗБРИЦЬКА
Інна Миколаївна

УДК 58.036(582.263+582.232)

**ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ
CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA ЗА УМОВ ПІДВИЩЕННЯ
ТЕМПЕРАТУРИ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА**

03.00.17 – гідробіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті гідробіології НАН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Ліщук Алефтіна Вікторівна,
Інститут гідробіології НАН України,
провідний науковий співробітник
відділу біології відтворення риб

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Грубінко Василь Васильович,
Тернопільський національний педагогічний університет
імені В. Гнатюка МОН України,
завідувач кафедри загальної біології та методики навчання
природничих дисциплін

кандидат біологічних наук
Поліщук Олександр Васильович,
Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України,
докторант відділу мембранології та фітохімії

Захист відбудеться “ 04 ” квітня 2017 р. об 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.213.01 Інституту гідробіології НАН України за адресою: 04210, м. Київ, пр. Героїв Сталінграду, 12.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту гідробіології НАН України (04210, м. Київ, просп. Героїв Сталінграду, 12).

Автореферат розісланий “ 02 ” березня 2017 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор біологічних наук



А.В. Ліщук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Однією з найважливіших екологічних проблем сьогодення є глобальна зміна клімату та пов'язане з нею збільшення середньорічних та максимальних температур повітря і водних мас (Бабіченко та ін., 2007; Туз, 2012). Потепління суттєво позначається на стані водних екосистем. Його наслідками є зміна умов існування гідробіонтів, що призводить до зростання кількості стресорів, з якими змушені стикатися живі організми (Hennemann, Petrucio, 2010; Wagner et al., 2016).

Провідна роль у функціонуванні прісноводних екосистем належить мікроводоростям, за рахунок фотосинтезу яких створюється фонд органічної речовини, що становить енергетичну основу для всіх наступних етапів продукційного процесу у водоймах (Макарова и др., 2009; Мухутдинов, 2013). Водоростям властивий широкий діапазон термостійкості. Вони здатні існувати в крайніх температурних умовах – як у гарячих джерелах, температура яких близька до точки кипіння води, так і на поверхні льоду та снігу, де її величини досягають близько 0°C (Вассер, 1989). Поряд з пристосованістю водоростей до певних температур, важливе значення для можливості їх розселення та існування в різних умовах має діапазон величин температур, при яких види можуть виживати. Для різних видів він неоднаковий і може значно відрізнятись, як і оптимальні температури їх вегетації (Ras, 2013).

Оскільки у рослин відсутні механізми теплової регуляції, вони змушені постійно адаптуватися до коливань температури середовища існування (Попов и др., 2010). У фаховій літературі є відомості щодо особливостей функціонування термофільних водоростей за умов постійного впливу високих температур (Castenholz, 1969; Brock, 1978; Seckbach, 2007). Разом з тим, закономірності змін фізіолого-біохімічних показників водоростей, що пристосовані до існування при помірних значеннях температури, у відповідь на її підвищення досліджені недостатньо. Враховуючи потепління клімату і пов'язане з ним збільшення як середньорічних, так і максимальних температур води, такого роду інформація важлива для розкриття механізмів адаптації автотрофної ланки водних екосистем до цих умов та становить інтерес для прогнозування структурно-функціональних змін у фітопланктоні водойм.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в Інституті гідробіології НАН України в рамках державної науково-дослідної теми «Особливості впливу абіотичних чинників на структурно-функціональні характеристики прісноводних водоростей та їх здатність продукувати біологічно цінні сполуки» (№ ДР 0113U000001).

Мета і завдання досліджень. Мета роботи – встановити закономірності впливу підвищених температур на функціонування поширених у водоймах України видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota, а також розкрити фізіолого-біохімічні механізми їх адаптації до цих умов.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- дослідити динаміку біомаси представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за температур культивування 20, 26, 32 та 38°C;

- вивчити динаміку змін концентрації хлорофілу *a* та каротиноїдів у культурах Chlorophyta та Cyanoprokaryota при різних температурах вирощування;
- встановити зв'язок між вмістом фотосинтетичних пігментів у біомасі фітопланктону та температурою води у літній сезон в затоці Оболонь Канівського водосховища;
- з'ясувати зміни вмісту фікобіліпротеїнів у біомасі ціанопрокаріот (на прикладі *Phormidium autumnale* f. *uncinata*) за впливу підвищеної температури культурального середовища та сумісної дії декількох абіотичних чинників;
- дослідити активність ферментів дихального метаболізму у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температурних умов;
- вивчити вплив підвищених температур на активність глутаматдегідрогенази в культурах Chlorophyta та Cyanoprokaryota;
- встановити реакцію прооксидантної та антиоксидантної систем культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota на дію підвищених температур водного середовища.

Об'єкти дослідження: культури деяких видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota, фітопланктон затоки Оболонь Канівського водосховища.

Предмет досліджень: функціональні зміни у клітинах водоростей за різних температурних умов водного середовища.

Методи дослідження: загальноприйняті методи культивування мікроводоростей; спектрофотометрія при визначенні вмісту пігментів, білків, ліпідів, активності ферментів, продуктів пероксидного окиснення ліпідів; загальновизнані методи відбору та опрацювання проб фітопланктону; методи гідрохімічного аналізу; методи статистичної обробки отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлено кількісні залежності між вмістом фотосинтетичних пігментів (хлорофіл *a* та сума каротиноїдів) у біомасі літнього фітопланктону мілководдя Канівського водосховища та температурою води.

На культурах Chlorophyta та Cyanoprokaryota показано роль ферментів дихального та азотного метаболізму при їх адаптації до дії високих температур.

Вперше встановлено зміни активності ферментів-антиоксидантів (супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза) у культур зелених водоростей та ціанопрокаріот в залежності від температури їх вирощування та віку.

Виявлено, що у захисті клітин водоростей від оксидативного стресу, що виникає під впливом високих температур, ключова роль належить неферментативним компонентам антиоксидантної системи – каротиноїдам та фікобіліпротеїнам.

Отримано нові результати щодо комбінованого впливу низки абіотичних чинників на вміст у біомасі ціанопрокаріот водорозчинних пігментів – фікобіліпротеїнів (с-фікоеритрин, с-фікоціанін та алофікоціанін).

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати становлять інтерес для розкриття фізіолого-біохімічних механізмів адаптації водоростей до впливу несприятливих температур середовища існування.

Встановлені кількісні залежності між концентрацією хлорофілу *a* у біомасі літнього фітопланктону Канівського водосховища та температурою води важливо враховувати при моделюванні впливу абіотичних чинників на вміст хлорофілу *a* у фітопланктоні.

Розроблений спосіб підвищення виходу фікобіліпротеїнів з біомаси ціанопротокариот, захищений патентом, можна застосовувати у біотехнологічній практиці при отриманні цих біологічно активних сполук, що мають широкий спектр застосування.

Висновки роботи можуть бути використані в процесі викладання навчальних курсів з гідробіології, екології та фізіології рослин для студентів вищих навчальних закладів.

Особистий внесок здобувача. Дисертація базується на результатах експериментальних робіт, одержаних авторкою особисто. Здобувачка самостійно підготувала огляд фахової літератури, підбрала та освоїла необхідні методики, опрацювала й узагальнила отримані результати, а також сформулювала висновки, особисто або у співавторстві підготувала до друку наукові праці, в яких викладені основні положення дисертації. Формулювання мети, завдань та інтерпретація отриманих результатів проведені за участю наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень оприлюднені на міжнародній конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Щолкіне, 2013); Науково-практичній конференції, присвяченій 95-річчю заснування Національної академії наук України «Актуальні проблеми сучасної гідроекології» (Київ, 2013); III Міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології» (Донецьк, 2014); V Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених та студентів «Біологічні дослідження» (Житомир, 2014); Науково-практичній конференції, присвяченій 75-річчю заснування Інституту гідробіології Національної академії наук України «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2015); VII з'їзді Гідроекологічного товариства України (Київ, 2015).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 16 наукових робіт, із них: 7 – статті у фахових наукових журналах, 2 – статті в інших наукових періодичних виданнях, 1 – патент України на корисну модель, 6 – матеріали та тези конференцій.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 128 сторінках. Вона складається зі вступу, огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, чотирьох розділів з висвітленими результатами власних досліджень, узагальнення, висновків та списку використаної літератури, який налічує 305 найменувань, в тому числі 178 латиною. Текст ілюстровано 39 рисунками і 9 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ВОДОРОСТЕЙ ДО ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР (огляд фахової літератури)

У розділі подано аналіз наукових джерел вітчизняних та зарубіжних авторів з вивчення впливу теплового чинника на метаболізм водоростей. Акцентується увага на механізмах адаптації автотрофної ланки водних екосистем до високих температур. Наведено інформацію щодо ролі білків теплового шоку, зміни жирнокислотного складу мембранних ліпідів, структурно-функціональних перебудов фотосинтетичного апарату та дихального ланцюга, а також змін в роботі антиоксидантної системи при формуванні резистентності водоростей до теплового чинника. Незважаючи на значну кількість літературних даних щодо механізмів захисту водоростей від дії підвищених температур, багато питань щодо адаптації клітин цих організмів до зазначеного абіотичного чинника ще мало досліджені і потребують подальшого вивчення. Білки теплового шоку забезпечують короточасний захист клітин від теплового стресу, водночас мало досліджені довготривалі механізми терморезистентності рослин. Недостатньо розкриті питання ролі ферментів дихального та азотного метаболізму в терморезистентності водоростей, а також значення деяких компонентів антиоксидантної системи у стійкості автотрофної ланки водних екосистем до високих температур, а наявні результати досить суперечливі.

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на альгологічно чистих культурах Chlorophyta (*Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew. HPDP-109; *Desmodesmus brasiliensis* (Bohl.) E. Hegew. IBASU-A 273; *Tetraedron caudatum* (Corda) Hansg. IBASU-A 277), Цианопрокаріота (*Aphanocapsa planctonica* (G.M. Sm.) Komárek et Anagn. (= *Microcystis pulverea* (Wood) Forti) HPDP-30; *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. HPDP-6; *Phormidium autumnale* (C. Agardh) Gomont f. *uncinata* (C. Agardh) N.V. Kondrat. HPDP-36; *Anabaena cylindrica* Lemmerm. HPDP-1) та фітопланктоні затоки Оболонь Канівського водосховища.

В експериментальних умовах культури водоростей вирощували на середовищі Фітцджеральда №11 в модифікації Цендера і Горема (Методи..., 1975) за освітлення 3000–3500 лк (з чергуванням світлового та темного періодів 16:8) та різних температур. Культивування 2 видів зелених водоростей – *Desmodesmus communis* і *Tetraedron caudatum* та 2 видів ціанопрокаріот *Aphanocapsa planctonica* і *Phormidium autumnale* f. *uncinata* проводили в термостаті за температур 20, 26, 32 та 38°C (з точністю підтримання температури $\pm 0,5^\circ\text{C}$). Загальна тривалість вирощування водоростей складала 28 діб. Матеріал для аналізів відбирали на 7-, 14-, 21- та 28-у доби культивування.

Культури *Desmodesmus brasiliensis*, *Tetraedron caudatum*, *Microcystis aeruginosa*, *Phormidium autumnale* f. *uncinata* та *Anabaena cylindrica* піддавали короточасному тепловому шоку шляхом нагрівання колб з водоростями на

водяній бані при температурі 38°C по 20 хв протягом трьох діб. Контролем слугували культури без теплової обробки (температура їх вирощування складала 26°C).

Камеральне опрацювання альгологічного матеріалу проводили загальноприйнятим у гідробіології методом (Топачевський, Масюк, 1984; Методи ..., 2006). Чисельність водоростей підраховували в камері Нажотта об'ємом 0,02 см³. Біомасу фітопланктону визначали розрахунково-об'ємним методом (Методи ..., 2006). Назви таксонів водоростей у дисертації наведено згідно з класифікаційною системою (Разнообразие водорослей Украины, 2000; *Algae of Ukraine* ..., 2006).

Інтенсивність росту культур водоростей оцінювали за змінами величини сухої маси (Методи...,1975).

Вміст фотосинтетичних пігментів у біомасі водоростей визначали екстрактним спектрофотометричним методом (Методи...,1975). Вміст хлорофілу *a* розраховували за рівнянням (Jeffrey, Humphrey, 1975), суми каротиноїдів – за формулою (Parsons, Strickland, 1963) та фікобіліпротеїнів (фікоеритрин, фікоціанін та алофікоціанін) – згідно з формулами (Стадничук, 1990).

Активність цитохромоксидази (КФ 1.9.3.1) досліджували за методом Штрауса (Straus, 1954), сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.99.1) – фероціанідним методом (Методы биохим. исслед..., 1982). Активність НАДН та НАДФН-глютаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.2) оцінювали за швидкістю окиснення відповідно НАДН і НАДФН (Софьин, 1984).

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів досліджували за зміною вмісту основних молекулярних продуктів цього процесу – дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів та малонового диальдегіду (Стальная, 1997; Романова, 1997).

Активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) визначали за методом Чеварі (Чевари и др., 1991), каталази (КФ 1.11.1.6.) – згідно з (Королук, 1988) та глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) – за методом Моїна (Моин, 1986).

Вміст білків в біомасі водоростей оцінювали за методом Лоурі (Lowry et al., 1951), а загальну кількість ліпідів визначали тестметодом (Lachema, Чехія) після хлороформ-метанолювої екстракції (Knight, 1972)

Концентрацію розчинених неорганічних сполук азоту та фосфору у природній воді досліджували за загальноприйнятими в гідрохімії методами (Унифицированные методы..., 1973; Методи..., 2006).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили із застосуванням програм MS Excel та STATISTICA 6.0.

ВПЛИВ РІЗНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ ТА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ПРЕДСТАВНИКІВ CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA

Динаміка сухої маси культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температур. Одним із зовнішніх проявів життєдіяльності будь якого рослинного організму є інтенсивність його росту. Встановлено, що максимальний приріст біомаси зелених водоростей *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* спостерігався за температури культивування 20°C, що свідчить про найвищу їх продуктивність в цих умовах (табл. 1). За температур 26 та 32°C ріст обох культур був пригнічений, а за екстремально високої температури (38°C) взагалі припинився.

У ціанопрокаріоти *Aph. planctonica*, на відміну від зелених водоростей, за температур 26 та 32°C інтенсивність росту була вищою, ніж за температури 20°C. Це свідчить про те, що *Aph. planctonica* порівняно з *D. communis* та *T. caudatum* пристосована до існування за вищих температур водного середовища. Проте, слід відмітити, що за екстремально високої температури у *Aph. planctonica*, як і у зелених водоростей, спостерігалось повне пригнічення росту.

Таблиця 1

Приріст сухої маси мікрowodоростей за різних температур

Культура	Коефіцієнт приросту сухої маси, доба ⁻¹			
	20°C	26°C	32°C	38°C
<i>D. communis</i>	0,070±0,003	0,060±0,007	0,046±0,003	0,000
<i>T. caudatum</i>	0,080±0,005	0,066±0,009	0,043±0,005	0,000
<i>Aph. planctonica</i>	0,055±0,008	0,072±0,008	0,063±0,009	0,000

Зміни вмісту хлорофілу *a* та каротиноїдів у біомасі культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температур. Вміст хлорофілу *a* є важливим фізіологічним показником, який характеризує функціональну активність фотосинтетичного апарату водоростей та їх реакцію на вплив несприятливих чинників середовища (Войцехович, Кашеваров, 2010). Найвищі величини цього показника, як і сухої маси, у *D. communis* та *T. caudatum* реєструвалися при 20°C. Встановлено, що за температури культивування 38°C спостерігалось істотне зниження вмісту хлорофілу *a* у біомасі обох зелених водоростей. При цьому, у *D. communis* протягом досліджуваного періоду за вказаних температурних умов вміст пігменту був меншим, ніж при 20°C в 1,8–5,4 рази, а у *T. caudatum* – в 2,7–6,4 рази. Відмічене нами зменшення вмісту хлорофілу *a* у водоростей за дії підвищених температур може свідчити, з одного боку, про пригнічення біосинтезу цього пігменту, а з іншого – про прискорення його розпаду.

У ціанопрокаріот *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* найвищий вміст хлорофілу *a* у біомасі реєстрували за температур 26 та 32°C, що свідчить про максимальну функціональну активність їх фотосинтетичного апарату за цих

умов. Встановлено, що за екстремально високої температури у ціанопрокаріот, як і у *D. communis* та *T. caudatum*, спостерігалось значне зниження вмісту хлорофілу *a*. Так, у *Aph. planctonica* протягом усього експерименту величина цього показника була меншою, ніж за температури 26°C у 1,2–2,9 рази, а у *Ph. autumnale* f. *uncinata* – 1,2–1,5 рази. Звертає на себе увагу той факт, що зміни вмісту хлорофілу *a* в сухій масі *Ph. autumnale* f. *uncinata* були значно меншими, ніж у *Aph. planctonica* і обох культур зелених водоростей. Виходячи з отриманих результатів, можна стверджувати, що *Ph. autumnale* f. *uncinata* найменш чутливий до дії екстремально високих температур. Як відомо, цей вид Cyanoprokaryota зустрічається у перифітоні водойм–охолоджувачів АЕС, де він зазнає впливу високих температур (Шевченко, 1991) та є домінантом перифітону дніпровських водосховищ в літній сезон (Шевченко, 2007).

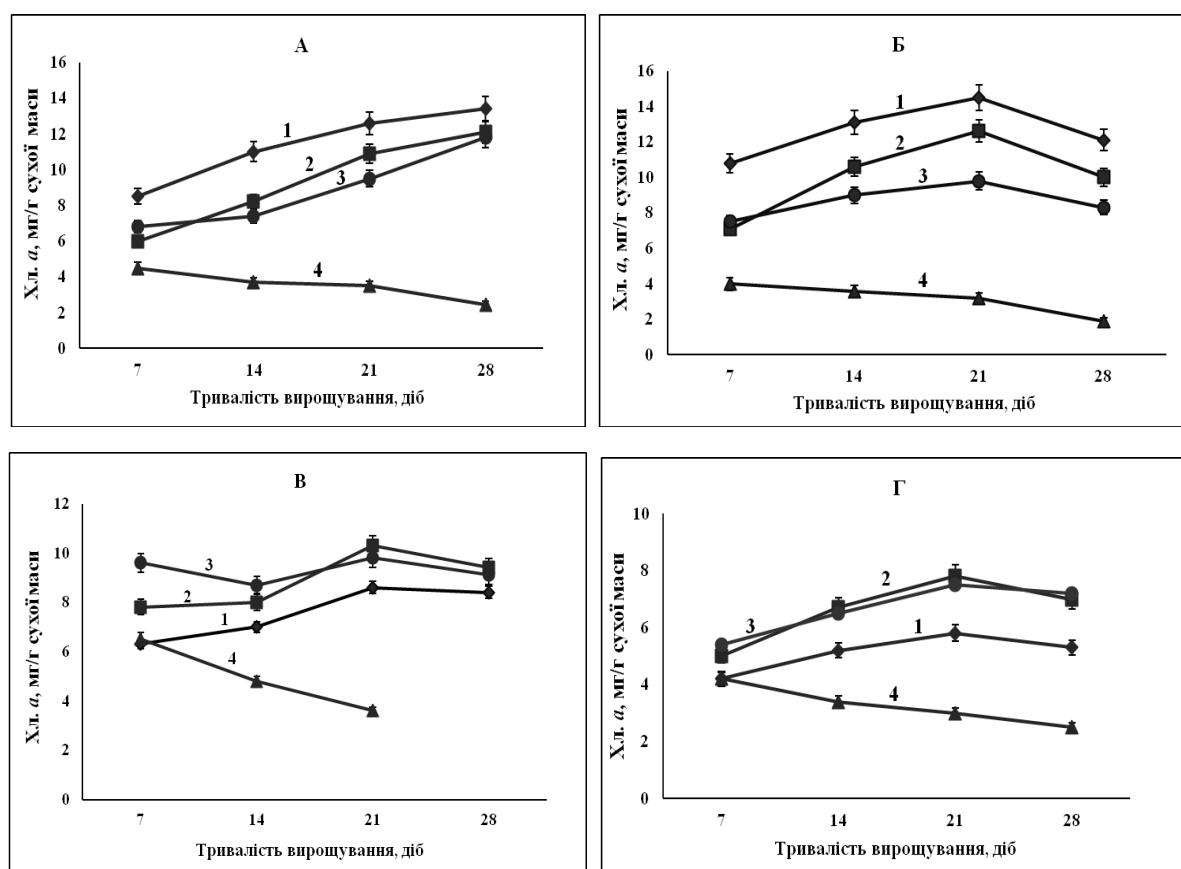


Рис. 1. Зміни вмісту хлорофілу *a* в біомасі культур Chlorophyta (А – *D. communis*; Б – *T. caudatum*) та Суанопрокаріота (В – *Aph. planctonica*; Г – *Ph. autumnale* f. *uncinata*) за різних температур: 1 – 20°C; 2 – 26°C; 3 – 32°C; 4 – 38°C.

Обов'язковим компонентом фотосинтетичного апарату як еукаріотних, так і прокаріотних водоростей, поряд з хлорофілом *a*, є каротиноїди. Зміни сумарного вмісту каротиноїдів відображають адаптивні властивості водоростей та їх здатність пристосовуватися до різних умов середовища існування (Гудвилевич и др., 2005). Нами встановлено, що за підвищених значень температури культивування (26 та 32°C порівняно з 20°C) у обох представників Chlorophyta та

Суанпрокарыота прастежувалося зростання вмісту каротиноїдів, що пояснюється їх захисною функцією. При цьому у *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* ці зміни були меншими, ніж у *D. communis* та *T. caudatum*. Однак за максимальної температури (38°C) в усіх досліджуваних видів спостерігалось зниження вмісту каротиноїдів. Слід відмітити, що інгібуючий вплив вказаної температури на біосинтез каротиноїдів був менш вираженим, ніж на біосинтез хлорофілу *a*.

Вплив температурного чинника на вміст хлорофілу *a* та каротиноїдів у фітопланктоні (на прикладі затоки Оболонь Канівського водосховища). Закономірності змін вмісту хлорофілу *a* та каротиноїдів за екстремально високих температур, отримані на культурах водоростей, узгоджуються з результатами досліджень, проведених нами в натурних умовах на фітопланктоні затоки Оболонь Канівського водосховища.

У літній сезон 2014–2015 рр. в поверхневому шарі води прибережної мілководної ділянки затоки Оболонь Канівського водосховища за біомасою домінували представники Суанпрокарыота (86,0-99,8% від загальної біомаси фітопланктону). Домінантами були основні збудники «цвітіння» води: *Anabaena flos-aquae* Bréb., *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. і *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs.

Між вмістом хлорофілу *a* в біомасі фітопланктону та температурою води нами встановлена обернена залежність. Зі збільшенням температури води з 21°C до 31°C величина співвідношення Хл. *a*/Б знизилася приблизно у 2 рази. Встановлено, що в природних умовах зменшення вмісту хлорофілу зі збільшенням температури води спостерігається при нижчих температурах (31°C), ніж в умовах культур ціанопрокаріот (38°C). Причиною цього може бути те, що освітлення в природних умовах під час відбору проб була значно вище (30–61 тис. лк), ніж в умовах культур (3–3,5 тис. лк).

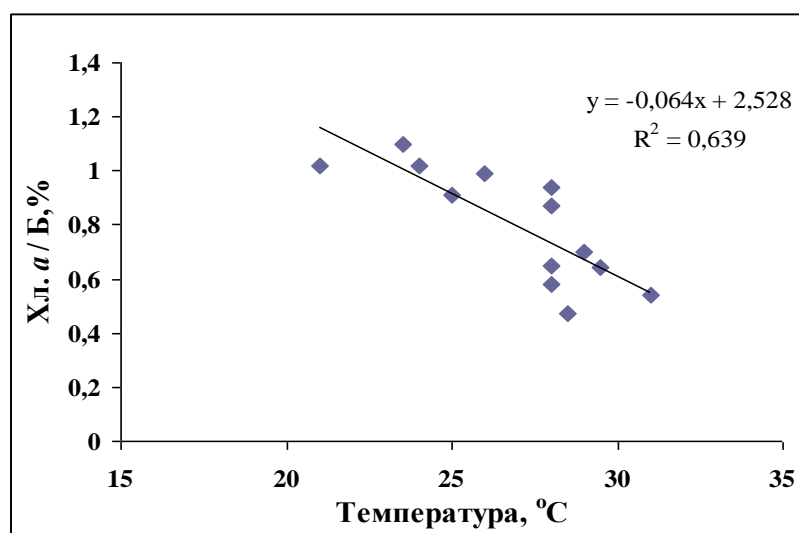


Рис. 2. Залежність між вмістом хлорофілу *a* в біомасі фітопланктону та температурою води у літній сезон 2014–2015 рр. в прибережній ділянці затоки Оболонь Канівського водосховища.

Встановлено, що сумарний вміст каротиноїдів в біомасі фітопланктону в діапазоні температур 21–26°C суттєво не змінювався. Проте за температури вище 28°C спостерігалось помітне зниження вмісту каротиноїдів, і він був мінімальним при 31,0°C. Отже, проведені дослідження засвідчують, що у типовому для Канівського водосховища у літній сезон фітопланктоні за екстремально високих температур зменшувався не лише вміст хлорофілу *a*, але і сумарний вміст каротиноїдів. Однак це зниження в природних умовах спостерігалось за нижчих температур, ніж в культурах ціанопрокаріот.

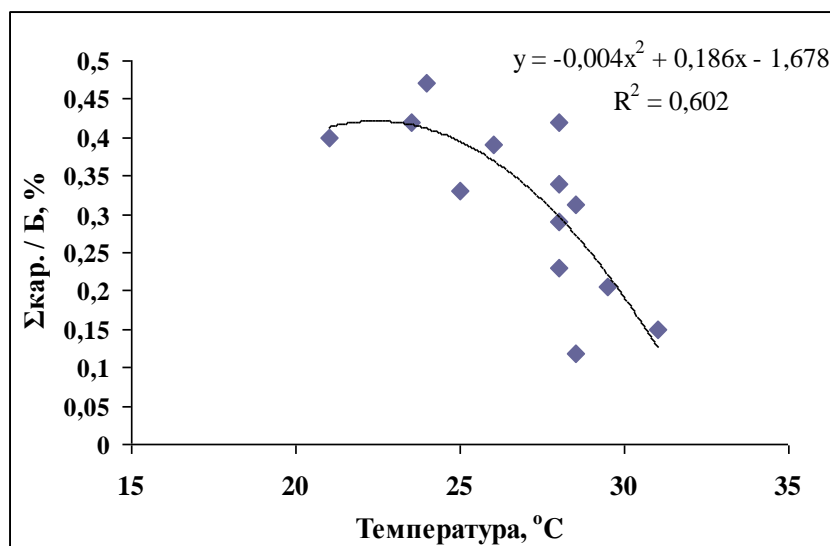


Рис. 3. Залежність між сумарним вмістом каротиноїдів в біомасі фітопланктону (%) та температурою води у літній сезон 2014–2015 рр. в прибережній ділянці затоки Оболонь Канівського водосховища.

Вплив температури та сумісна дія різних абіотичних чинників на вміст фікобіліпротеїнів у культур Суанорпрокарыота. Характерною особливістю представників Суанорпрокарыота є наявність в їх фотосинтетичному апараті, крім хлорофілу *a* та каротиноїдів, фікобіліпротеїнів (або фікобілінових пігментів) – с-фікоеритрину (С-ФЕ), с-фікоціаніну (С-ФЦ) та алофікоціаніну (АФЦ). Основною їх функцією є поглинання та передача енергії світла хлорофілу *a* (Стадничук, 1990; Гудвиллович, 2010). Встановлено, що у *Ph. autumnale* f. *uncinata* за температури 26°C, порівняно з 20°C, на стаціонарній фазі росту культури вміст С-ФЕ та АФЦ був більшим у 1,6, а СФЦ – у 1,7 рази. Разом з тим за 32°C ціанопрокаріота накопичувала у біомасі ще більшу кількість цих пігментів. Так, за вказаної температури порівняно з 20 та 26°C вміст С-ФЕ, С-ФЦ та АФЦ був вищим у 2,2; 2,4; 2 та 1,4; 1,4; 1,3 рази відповідно. Фікобіліпротеїни характеризуються сильними антиоксидантними властивостями (Pumas et al., 2011; Pandey, 2013), тому збільшення вмісту цих пігментів у біомасі ціанопрокаріоти за температури 32°C може бути пов'язане з їх участю в реакціях захисту клітин від активних форм кисню. Слід зауважити, що збільшення вмісту фікобіліпротеїнів у *Ph. autumnale* f. *uncinata* при підвищенні температури водного середовища відбувалося лише до певної межі, бо при 38°C їх біосинтез був пригнічений або відбувалося руйнування цих пігментів білкової природи.

Вміст фікобіліпротеїнів на стаціонарній фазі росту в *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за впливу різних температур

Температура, °C	Вміст фікобіліпротеїнів, мг/г сухої маси		
	с-фікоеритрин	с-фікоціанін	алофікоціанін
20	1,20±0,05	2,0±0,08	1,8±0,08
26	1,91±0,06	3,4±0,11	2,8±0,10
32	2,60±0,09	4,8±0,18	3,6±0,16
38	1,25±0,06	2,2±0,09	2,0±0,11

Фікобіліпротеїни мають важливе практичне значення. Вони використовуються в харчовій промисловості як природні барвники, а також в медицині при діагностиці та лікуванні ракових захворювань, тому істотний інтерес становило розробити ефективний спосіб підвищення виходу цих біологічно активних сполук з біомаси ціанопрокаріот.

Нами встановлено, що максимальний стимулюючий ефект на біосинтез фікобіліпротеїнів спостерігався не за впливу окремих абіотичних чинників, а за їх сумісної дії. Так, при одночасному застосуванні короткочасного підвищення температури культурального середовища з 26 до 38°C, додаткового внесення до нього 1 г/дм³ NaNO₃ та зменшення освітлення у 5 разів (з 2500 до 500 лк) вміст С-ФЕ у біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* збільшився в 2,8 рази, а С-ФЦ та АФЦ – 3,5 та 2,5 рази відповідно порівняно з контролем. Отже, короткочасне застосування впливу низки стресових чинників перед вилученням біомаси ціанопрокаріот для виділення з неї фікобіліпротеїнів дає можливість істотно підвищити вихід цих біологічно активних сполук, що важливо враховувати у біотехнологічній практиці.

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ДИХАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ПЕРЕДСТАВНИКІВ CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA ЗА РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУР

Основним постачальником енергії для активації механізмів захисту рослинних клітин від впливу несприятливих умов виступає дихання (Астафурова, 1997), тому дослідження зміни активності ферментів дихального метаболізму – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази при підвищенні температури вирощування культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota становить суттєвий інтерес.

Активність сукцинатдегідрогенази. Сукцинатдегідрогеназа (СДГ) - один з регуляторних ферментів циклу Кребса, що каталізує зворотню реакцію окиснення бурштинової кислоти до фумарової. СДГ – компонент не тільки циклу Кребса, але й дихального електронно-транспортного ланцюга (входить до складу комплексу II), тому його регуляція пов'язана з функціонуванням одразу двох ключових процесів (Федорин, 2007; Роров et al., 2010). Встановлено, що у зелених

водоростей *D. communis* та *T. caudatum* за усіх досліджуваних температур (20, 26 та 32°C) як на 14-у, так і на 28-у добу культивування істотних змін активності СДГ не спостерігалося, що, в свою чергу, свідчить про відсутність суттєвих перебудов у функціонуванні циклу трикарбонових кислот.

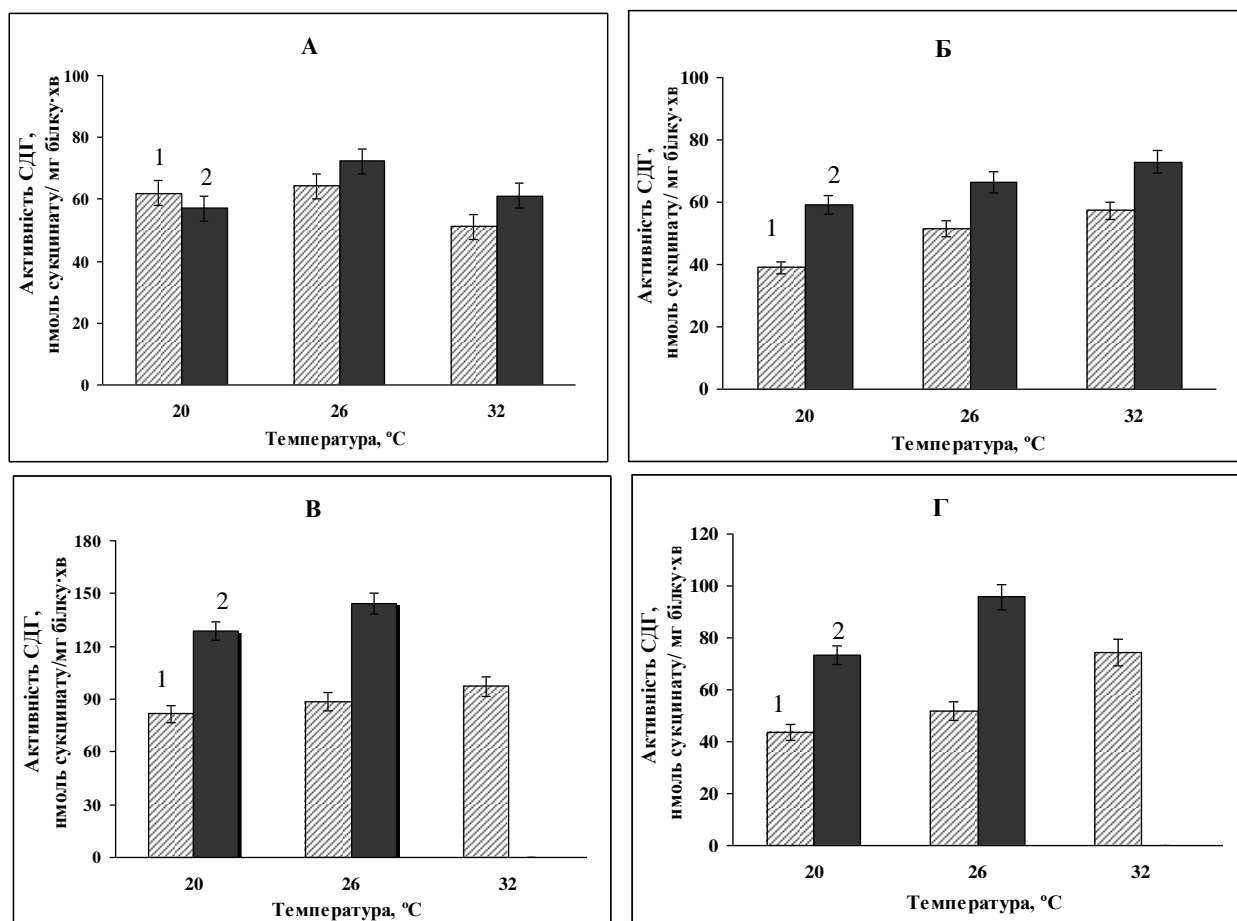


Рис. 3. Активність сукцинатдегідрогенази (нмоль сукцината/мг білку·хв) у культур Chlorophyta та Суанпрокариота за різних температур: А – *D. communis*; Б – *T. caudatum*; В – *Aph. planctonica*; Г – *Ph. autumnale f. uncinata*; 1 – 14 доба культивування водоростей; 2 – 28 доба культивування.

Натомість, у ціанопрокаріот *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale f. uncinata* за температури 32°C на 28-у добу культивування реєструвалося повне пригнічення активності вказаного ферменту. Різке зниження активності СДГ на стаціонарній фазі їх росту, ймовірно, обумовлено змінами в енергетичному метаболізмі ціанопрокаріот, в ході яких має місце активація анаеробної гілки енергозабезпечення.

Активність цитохромоксидази. Цитохромоксидаза (ЦХО) – фермент клітинного дихання усіх еукаріот та багатьох прокаріот, що каталізує відновлення молекулярного кисню до води (Soulimane et al., 2000). За результатами проведених досліджень, активність ЦХО на 14-у добу культивування у *D. communis* за температур 26 та 32°C була вищою у 3,2 та 6,2 рази відповідно, ніж за температури 20°C, а у *T. caudatum* – у 5 та 4,6 рази відповідно, що пов'язано з інтенсифікацією дихання у водоростей за підвищених температур. На 28-у добу

вирощування *D. communis* та *T. caudatum* (вихід культур на стаціонарну фазу росту) за вищих температур спостерігалася протилежна тенденція, ніж на 14-у добу. Так, за температури 26°C активність ЦХО у обох водоростей практично не відрізнялася від зареєстрованої при 20°C, тоді як в умовах впливу температури 32°C спостерігалася повна інактивація цього ферменту. Варто зауважити, що СДГ при цьому зберігала високу активність, що, очевидно, пов'язане з активуванням альтернативної оксидази у клітинах мікробіодоростей. Альтернативна оксидаза дає можливість продовжувати функціонувати циклу трикарбонових кислот в умовах, коли цитохромний шлях блокується або обмежується наявністю АДФ (Wagner, Moore, 1997).

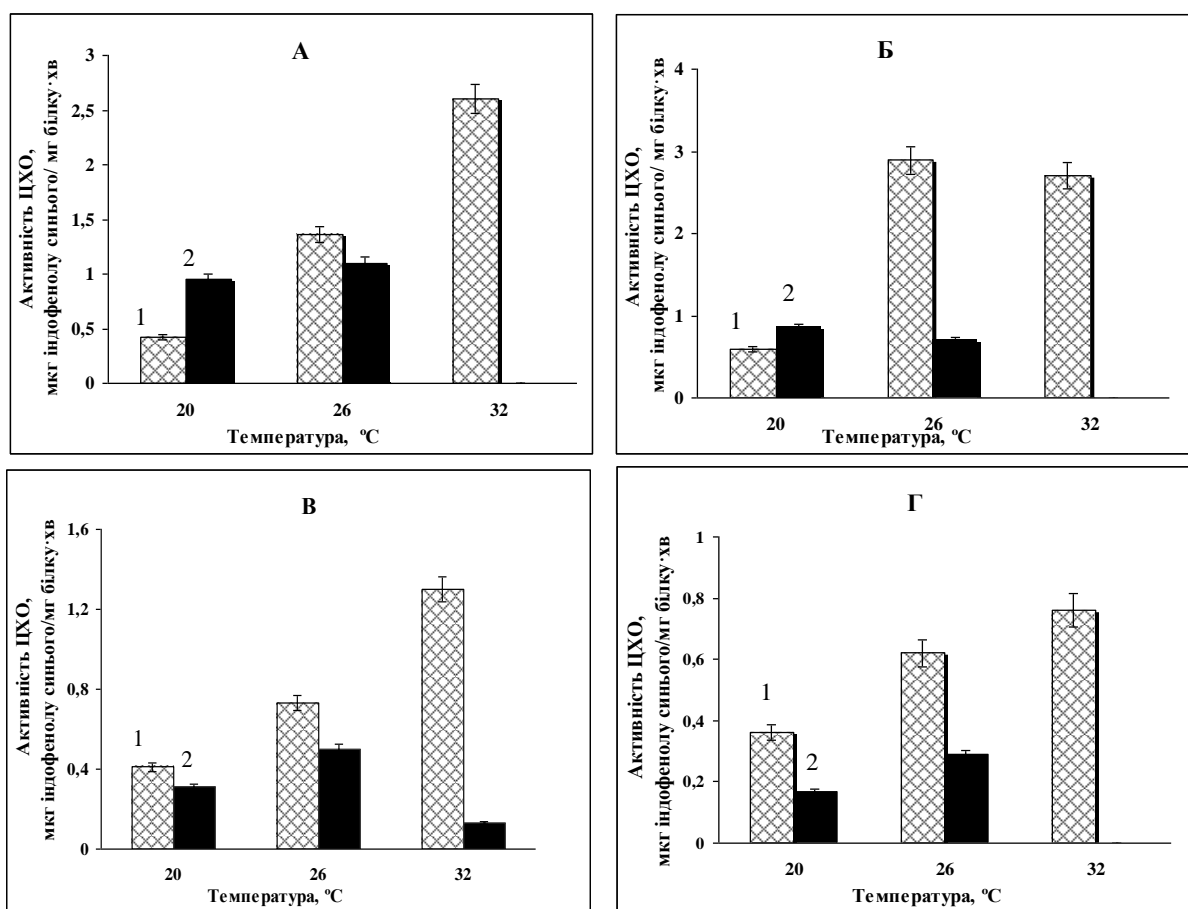


Рис. 4. Активність цитохромоксидази (мкг індофенолу синього/мг білку·хв) у культур Chlorophyta та Суанорокаруота за різних температур: А – *D. communis*; Б – *T. caudatum*; В – *Aph. planctonica*; Г – *Ph. autumnale f. uncinata*; 1 – 14 доба культивування водоростей; 2 – 28 доба культивування.

Встановлено, що у ціанопрокаріоти *Aph. planctonica* за температури 26°C на 14-у та 28-у доби культивування активність ЦХО була вищою, ніж при 20°C у 1,7 та 1,9 рази відповідно, а у *Ph. autumnale f. uncinata* – у 1,7 рази. При 32°C, порівняно з іншими досліджуваними температурами, у ціанопрокаріот, як і у зелених водоростей, стрімке зростання цитохромоксидазної активності спостерігалася лише на 14-у добу росту культур, тоді як на 28-у добу в них простежувалося повне інгібування активності ферменту. Це узгоджується з

отриманими нами результатами щодо змін активності СДГ у *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* і свідчить про перехід їх на альтернативні шляхи енергозабезпечення, оскільки функціональна активність ціанопрокаріот за цих умов залишалася на високому рівні.

ВПЛИВ ПІДВИЩЕНИХ ТЕМПЕРАТУР НА АКТИВНІСТЬ ГЛУТАМАТДЕГІДРОГЕНАЗИ КУЛЬТУР CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA

Ключовою ланкою азотного обміну є взаємоперетворення α -кетоглутарату і глутамату за участю глутаматдегідрогенази (ГДГ), при якому одночасно відбувається взаємотрансформація неорганічного амонійного та органічного α -амінного азоту. Роль відновника в цих процесах може відігравати НАДН або НАДФН. У рослин та мікроорганізмів НАДН-ГДГ є катаболічним ферментом та здійснює переважно дезамінування глутамату, а НАДФН-ГДГ – анаболічним і здійснює амінування 2-оксоглутарату (Боднар та ін., 2010; Василенко та ін., 2014; Грубінко та ін., 2014).

Встановлено, що у *D. communis* за температури вирощування 26 °С порівняно з 20°С активність НАДФН-ГДГ на експоненційній фазі росту культури (14-а доба) була у 2,2 рази, а на стаціонарній (28-а доба) – у 2,3 рази вищою (табл. 3).

Таблиця 3

Зміни активності НАДН- та НАДФН-глутаматдегідрогенази культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota за впливу підвищених температур

Т, °С	Доба	ГДГ-НАДН, мкмоль НАДН·10 ⁻³ /мг білку·хв				ГДГ-НАДФН, мкмоль НАДФН·10 ⁻³ /мг білку·хв			
		1	2	3	4	1	2	3	4
20	14	8,60± 0,15	6,24± 0,12	5,64± 0,47	14,26± 0,56	7,19± 0,86	5,92± 0,50	9,42± 0,68	18,21± 0,13
	28	4,59± 0,74	6,63± 0,58	7,32± 0,45	24,12± 0,34	4,52± 0,17	10,82± 0,59	16,31± 0,13	31,45± 0,62
26	14	10,36± 0,29	4,52± 0,21	6,47± 0,94	15,96± 1,26	15,48± 0,79	12,20± 0,79	14,56± 0,81	25,13± 2,09
	28	12,71± 0,07	8,44± 0,48	12,70± 0,44	38,17± 0,91	10,44± 0,19	7,31± 0,92	11,00± 0,63	35,17± 0,57
32	14	3,54± 0,16	2,65± 0,33	2,28± 0,02	15,56± 1,18	3,40± 0,22	3,11± 0,13	5,62± 0,76	18,24± 0,27
	28	3,60± 0,08	5,21± 0,39	8,39± 0,20	17,52± 1,01	3,04± 0,25	5,75± 0,26	15,00± 0,29	34,73± 4,58

Примітка: 1 – *D. communis*, 2 – *T. caudatum*, 3 – *Aph. planctonica*, 4 – *Ph. autumnale* f. *uncinata*.

Разом з тим, активність НАДН-ГДГ за досліджуваної температури на 14-у та 28-у доби росту культури зросла відносно величин зафіксованих при 20°C в 1,2 та 2,8 рази відповідно. Одержані результати свідчать, що у *D. communis* за вищої із досліджуваних температур спостерігається інтенсифікація азотного обміну загалом, що, очевидно, є одним з механізмів адаптації водорості до цих умов.

У *T. caudatum* за температури 26°C, порівняно з 20°C, зміни активності НАДН- та НАДФН-залежної ГДГ мала протилежний характер. На 14-у добу росту за досліджуваних температурних умов анаболічна активність ГДГ була вищою у 2,1 рази порівняно із зареєстрованою за температури 20°C, а катаболічна – нижчою у 1,4 рази. Співвідношення НАДН-/НАДФН-ГДГ при цьому складало 1:2,4. Це свідчить про зміщення ГДГ-ної реакції у бік амінування 2-оксоглутарату, що забезпечує більш ефективне виведення аміаку, який за дії підвищеної температури, очевидно, утворюється в значних кількостях. На 28-у добу росту культури за температури 26°C порівняно з 20°C активність НАДН-ГДГ дещо підвищилася, а НАДФН-ГДГ – знизилася, тобто реакція змістилася в бік утворення субстрату для циклу Кребса – 2-оксоглутарату.

За температури 32°C у *D. communis* та *T. caudatum* активність обох форм ГДГ була значно нижчою, ніж за 20 та 26°C протягом всього періоду вирощування. Відмічений факт свідчить про порушення функціонування глутаматдегідрогеназної системи зелених водоростей за цих умов.

У ціанопрокаріоти *Aph. planctonica*, як і у *T. caudatum*, за нижчих із досліджуваних температур зміни анаболічної та катаболічної активності ГДГ мали протилежний характер (табл. 3). На 14-у добу культивування за температури 20°C активність НАДФН-ГДГ була нижчою, а НАДН-ГДГ – не відрізнялася від зареєстрованої за 26°C. На 28-у добу активність анаболічного напряму ГДГ-реакцій була вищою, тоді як активність катаболічного шляху спрямування – нижчою, ніж за 26°C. Зміни активності НАДН- і НАДФН-ГДГ в бік амінування, очевидно, пояснюються тим, що в клітині відбувається перерозподіл продуктів амінування для синтезу інших амінокислот, що забезпечують адаптивну реакцію водорості на вплив несприятливого чинника (Боднар та ін., 2010). Слід відмітити, що за температури 32°C у досліджуваній ціанопрокаріоти (як і зелених водоростей) анаболічна та катаболічна активність ГДГ була пригнічена.

Встановлено, що у *Ph. autumnale* f. *uncinata* зміни НАДН і НАДФН-ГДГ за впливу різних температур, порівняно з іншими видами водоростей, були найменшими. Максимальні величини досліджуваних показників у ціанопрокаріоти, загалом, зафіксовано за температури 26°C. Слід зауважити, що вираженого інгібуючого впливу температури 32°C на активність ГДГ у *Ph. autumnale* f. *uncinata*, як у інших видів, не спостерігалось. Це узгоджується з одержаними нами результатами щодо змін фотосинтетичних пігментів у *Ph. autumnale* f. *uncinata* і свідчить про найвищу резистентність цього виду до високих температур.

СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПРЕДСТАВНИКІВ CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA ЗА ДІЇ ПІДВИЩЕНИХ ТЕМПЕРАТУР

Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів за короткочасного впливу теплового шоку. На підставі аналізу одержаних результатів виявлено, що за короткочасного впливу теплового шоку у збудників «цвітіння» води *Microcystis aeruginosa* та *Anabaena cylindrica* спостерігалось посилення процесів ліпопероксидації, про що свідчить вірогідне збільшення вмісту їх кінцевого стабільного продукту – малонового диальдегіду. Найбільш стійкою з досліджуваних ціанопрокаріот до впливу короткочасного теплового стресу виявилася *Ph. autumnale f. uncinata*.

У зеленої водорості *Desmodesmus brasiliensis* реєструвалося інгібування процесів пероксидного окиснення ліпідів, а у *Tetraedron caudatum* їх інтенсивність практично не відрізнялася від контролю, що свідчить про ефективну роботу систем захисту, які перешкоджають розвитку оксидативного стресу під час короткотривалого впливу теплового стресу.

Вплив різних температур культивування на активність ферментів-антиоксидантів культур Суанопрокарыота та Chlorophyta. Активність супероксиддисмутази. Супероксиддисмутаза (СОД) здійснює первинний захист клітин від оксидативного стресу і каталізує реакцію знешкодження супероксидного аніон-радикалу. У ціанопрокаріот максимальна активність СОД спостерігалася за температури 20°C. При цьому, у *Aph. planctonica* на 14-у і 28-у доби культивування за вказаної температури рівень активності СОД був вищим, ніж при 26°C у 8,1 і 1,4 рази відповідно, а у *Ph. autumnale f. uncinata* – у 4 і 3,5 рази. Згідно з одержаними нами результатами, за температури 20°C, порівняно з 26°C, інтенсивність росту ціанопрокаріот та біосинтез фотосинтетичних пігментів були пригнічені (див. табл. 1, рис. 1В, Г), тому зростання активності СОД може бути обумовлено збільшенням в клітинах активних форм кисню, зокрема супероксидного аніон-радикалу.

У *D. communis* та *T. caudatum* на 14-ту добу росту за температури 26°C, активність СОД була значно нижчою, ніж за 20°C. Однак показники росту та вмісту фотосинтетичних пігментів у обох зелених водоростей за вищої із досліджуваних температур були, навпаки, меншими (див. табл. 1). Зниження активності СОД при підвищеній температурі культурального середовища пов'язано, ймовірно, зі збільшенням в клітинах водоростей концентрації пероксиду водню, оскільки в несприятливих умовах активуються ферменти, які його розщеплюють та інактивуються системи, що його виробляють (Бацманова та ін., 2008; Vanacker et al., 2006).

Встановлено, що за температури 32°C, порівняно з іншими досліджуваними температурами, у обох видів Chlorophyta та Суанопрокарыота супероксиддисмутазна активність була пригнічена, що обумовлено, очевидно, виснаженням пулу ферменту.

Активність каталази. Каталаза (КАТ) забезпечує розщеплення пероксиду водню до кисню та води, запобігаючи тим самим його токсичному ефекту

(Грохольська та ін., 2011). Одержані результати свідчать, що в усіх досліджуваних культур за впливу температур 20 та 26°C зміни активності КАТ порівняно з СОД мали, переважно, протилежний характер.

У ціанопрокаріот *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* на 14-у добу культивування за температури 20°C рівень активності КАТ був нижчим, ніж за температури 26°C у 2,1 та 2,2 рази відповідно, а на 28-у добу – в 1,3 та 1,5 рази. Проте активність СОД за цих умов, навпаки, була вищою, особливо на експоненціальній фазі росту ціанопрокаріот. Отже, за вказаних температурних умов на тлі значного підвищення активності СОД відбувається зниження активності КАТ. Це, очевидно, пояснюється тим, що для каталази супероксидний аніон-радикал є негативним ефектором, а пероксид водню – позитивним, тоді як для СОД – навпаки (Дубініна, 1998).

У *D. communis* та *T. caudatum* на 14-у добу культивування за температури 26°C порівняно з 20°C активність КАТ була вищою у 1,5 та 1,8 рази відповідно, що може бути пов'язано з участю ферменту у нейтралізації пероксиду водню, який накопичився в цей період. Слід відмітити, що активність СОД за вищої із досліджуваних температур була значно нижчою, що свідчить про протилежний характер функціонування досліджуваних ферментів антиоксидантного захисту.

Зі збільшенням віку культури *D. communis* та тривалості впливу температури 26°C до 28-и діб активність КАТ була нижчою у 1,6 рази від зареєстрованої при 20 °C. Разом з тим у *T. caudatum* за цих умов, навпаки, відмічалось зростання величини досліджуваного показника у 2 рази. Слід відмітити, що активність СОД у *T. caudatum* за вищої із досліджуваних температур також була більшою, що свідчить про важливу роль обох ферментів в адаптації водорості до цих умов.

Встановлено, що за температури 32°C з виходом представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota на стаціонарну фазу росту спостерігалася практично повна інактивація КАТ. Слід зауважити, що зміни активності СОД за цих умов були меншими, ніж КАТ. Це свідчить про те, що СОД, очевидно, характеризується вищою термостабільністю, ніж КАТ.

Активність глутатіонпероксидази. Нами встановлено, що як у зелених водоростей, так і у ціанопрокаріот за досліджуваних температур культивування зміни активності глутатіонпероксидази (ГПО) порівняно з КАТ за характером були загалом однаковими, що пояснюється участю обох ферментів в детоксикації пероксиду водню. Найвища активність ГПО в усіх досліджуваних видів реєструвалися при 26°C.

Слід зауважити, що каталітична активність ГПО на стаціонарній фазі росту зелених водоростей та ціанопрокаріот за температур 20 та 26°C значно вища, ніж на експоненційній, що пов'язано, очевидно, зі збільшенням в їх клітинах вмісту органічних пероксидів по мірі старіння культур.

Мінімальна активність ГПО, як і КАТ та СОД у всіх досліджуваних видів відмічена за температури 32°C на 28-у добу їх росту. Очевидно, ключову роль в адаптації до несприятливої температури виконують такі низькомолекулярні антиоксиданти як каротиноїди та фікобіліпротеїни, оскільки їх вміст за цих умов, навпаки, істотно збільшився.

ВИСНОВКИ

На підставі експериментальних та натурних досліджень встановлено закономірності змін фізіолого-біохімічних показників у деяких видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota, поширених у водоймах України, за впливу різних температур. З'ясовано роль ферментів енергетичного та азотного обміну, а також деяких високо- та низькомолекулярних антиоксидантів у адаптації досліджуваних еукаріот та прокаріот до підвищення температури.

1. Виявлено, що найвища інтенсивність росту зелених мікроводоростей *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* спостерігалась за мінімальної із досліджуваних температур – 20°C, натомість ціанопрокаріота *Aphanocapsa planctonica* накопичувала більшу біомасу за 26 та 32°C. Відмічено повне пригнічення росту як зелених мікроводоростей, так і ціанопрокаріот за температури 38°C.

2. Встановлено, що вміст хлорофілу *a*, як і суха маса, культур *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* максимальні за 20°C, а у *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata* – за вищих температур (26°C та 32°C). В умовах впливу екстремально високої температури (38°C) у обох видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota зареєстровано найнижчі величини цього показника.

3. Між вмістом хлорофілу *a* у біомасі (Хл.*a* /Б) літнього фітопланктону мілководдя Канівського водосховища і температурою води встановлена обернена залежність: з її збільшенням від 21 до 31°C відношення Хл.*a*/Б зменшилося в 2 рази. За екстремально високих температур сумарний вміст каротиноїдів у фітопланктоні також знизився. У природних умовах ефект зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у біомасі фітопланктону зі збільшенням температури води спостерігається при нижчих її величинах, ніж в умовах культур.

4. Показано, що у зелених водоростей за температур 20, 26 та 32°C на рівні ферменту циклу Кребса – сукцинатдегідрогенази істотних змін у функціонуванні дихального ланцюга не відбувається. Натомість, у ціанопрокаріот за температури 32°C із виходом культур на стаціонарну фазу росту відбувається повне інгібування активності цього ферменту.

5. Виявлено, що цитохромоксидаза усіх досліджуваних культур більш чутлива до змін температури, ніж сукцинатдегідрогеназа. На експоненційній фазі росту (14-а доба) за температури 32°C у *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* активність цитохромоксидази більша, ніж за 20°C відповідно у 6,2 та 4,6 рази, а у *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata* – у 3,1 та 2,4 рази відповідно, що пов'язано, очевидно, з інтенсифікацією у них дихання. Проте з виходом усіх культур на стаціонарну фазу росту (28-а доба) за цієї температури цитохромоксидаза практично повністю інгібується, що свідчить про порушення функціонування дихального ланцюга.

6. Показано, що за температури 26°C порівняно з 20°C у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota відбувається активування глутаматдегідрогенази. Натомість за температури 32°C як анаболічна, так і катаболічна активність

ферменту була пригнічена, тобто спостерігалось порушення глутаматдегідрогеназної гілки метаболізму азоту.

7. Встановлено, що у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за екстремально високих температур зміни фізіолого-біохімічних показників виявилися найменшими порівняно з *Aphanocapsa planctonica* та зеленими мікроводоростями. Це свідчить про те, що представник нитчастих перифітонних ціанопрокаріот *Ph. autumnale* f. *uncinata* є найбільш стійким до високої температури.

8. Виявлено, що максимальною активністю супероксиддисмутази у зелених водоростей та ціанопрокаріот була за температури 20°C. Її функціональна здатність зменшувалась при вищих температурах культивування і була мінімальною за температури 32°C.

9. Активність каталази і супероксиддисмутази в усіх досліджуваних культур за температур 20°C та 26°C знаходилися у протифазі, що пояснюється тим, що високі концентрації супероксидного радикалу пригнічують активність каталази, а пероксиду водню – супероксиддисмутази. За температури 32°C активність обох ферментів стрімко знизилася.

10. Встановлено, що зміни показників активності глутатіонпероксидази за температур 20, 26 і 32°C в усіх досліджуваних видів загалом збігалися з динамікою активності каталази, що пов'язано з участю обох ферментів в розщепленні пероксиду водню.

11. Встановлений факт зниження за температури 32°C активності ферментів-антиоксидантів у старіших культур та збільшення вмісту каротиноїдів і фікобіліпротеїнів свідчить про те, що важлива роль в захисті клітин мікроводоростей від активних форм кисню за впливу високих температур належить низькомолекулярним антиоксидантам.

12. Виявлено, що за температури 32°C вміст фікобіліпротеїнів в біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata* був вищим порівняно з 20°C в 2 рази. При комбінованому впливі стресових чинників: підвищенні температури культурального середовища, додатковому внесенні до нього джерела азоту та зменшенні освітлення вміст с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну зріс ще суттєвіше (відповідно у 2,8, 3,5 та 2,5 рази). Отримані результати слід враховувати у біотехнологічній практиці при отриманні фікобіліпротеїнів.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових наукових виданнях

1. Незбрицька І.М. Вплив короткочасного теплового шоку на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів представників *Cyanoprokaryota* та *Chlorophyta* / І.М. Незбрицька, А.В. Курейшевич, А.С. Потрохов, О.Г. Зінківський // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2014. – №1(58). – С. 87–91. (Збір, обробка та аналіз матеріалу, написання статті).

2. Незбрицька І.М. Вплив температурного чинника на вміст фікобілінових пігментів у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (С. Agardh.) N. V. Kondrat / І.М. Незбрицька, А.В. Курейшевич // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. – 2015. – №3-4(64). – С. 495–499. *(Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті).*
3. Незбрицька І.М. Зміни деяких фізіолого-біохімічних показників у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температур / І.М. Незбрицька, А.В. Курейшевич, О.В. Василенко, О.І. Боднар // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія. – 2016. – №1(65). – С. 121–130. *(Збір, обробка, участь у написанні статті).*
4. Курейшевич А.В. Влияние температуры воды на содержание фотосинтетических пигментов в фитопланктоне залива Оболонь Каневского водохранилища / А.В. Курейшевич, **И.Н. Незбрицкая**, В.П. Гусейнова, А.А. Морозова // Гидробиол. журн. – 2016. – Т. 52, № 3. – С. 45–57. *(Відбір альгологічних проб, участь в обговоренні результатів і написанні статті).*
5. Nezbyrskaya I.N. Changes in the Content of Photosynthetic Pigments in Representatives of Chlorophyta and Cyanoprokaryota at a High Temperature / I.N. Nezbyrskaya, A.V. Kureyshevich, O.V. Vasilenko // Hydrobiological Journal. – 2015. – Vol. 51, N 4. – P. 46–56. *(Збір, обробка та аналіз матеріалу, написання статті).*
6. Nezbyrskaya I.N. Effect of Thermal Conditions on Growth Processes and Glutamate Dehydrogenase Activity in Selected Species of Chlorophyta and Cyanoprokaryota / I.N. Nezbyrskaya, A.V. Kureyshevich, O.V. Vasilenko // Hydrobiological Journal. – 2016. – Vol. 52, N 1. – P. 106–113. *(Збір, обробка, аналіз даних, узагальнення матеріалів, написання статті).*
7. Kureyshevich A.V. Activity of antioxidant enzymes of cyanoprokaryota and green microalgae when culturing under different temperature conditions / A.V. Kureyshevich, **I.N. Nezbyrskaya**, A.V. Stanislavchuk // International Journal on Algae. – 2016. – Vol. 18, N 2. – P. 169–177. *(Збір, обробка та аналіз матеріалу, написання статті).*

Патенти

8. Патент України № 109645, МПК (2016.01), С12R 1/00 С12N 1/00. Спосіб підвищення вмісту фікобіліпротеїнів / А.В. Курейшевич, **І.М. Незбрицька**, О.А. Васильченко, А.Б. Миненко. Заявник та патентовласник Інститут гідробіології НАН України. – № и 201602935, заявл. 22.03.2016, опубл. 25.08.2016, Бюл. № 16. *(Участь у проведенні досліджень, проведення патентного пошуку, узагальнення результатів та написання патенту).*

Статті у інших періодичних наукових виданнях

9. Незбрицкая И.Н. Механизмы резистентности водорослей к высоким температурам (обзор) / И.Н. Незбрицкая, А.В. Курейшевич // Гидробиол. журн. – 2013. – Т. 49, № 6. – С. 37–55.
10. Незбрицька І.М. Вміст фікобіліпротеїнів у біомасі синьозеленої водорості *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за умов зміни температури культивування / І.М. Незбрицька, А.В. Курейшевич, О.А. Васильченко, А.Б. Миненко // Проблеми екологічної біотехнології. – 2014. – № 2. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/j-pdf/peb_2014_2_11.pdf.

Матеріали та тези конференцій

11. Nezbyrskaya I.N. Influence of high temperature stress on the content of plant pigments of some Cyanoprokaryota and Chlorophyta species / I.N. Nezbyrskaya, A.V. Kureyshevich // Мат. міжнар. конф. молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Щолкіне, 18–22 червня 2013 р.). – К.: Фітосоціоцентр, 2013. – С. 245–246.
12. Незбрицька І.М. Вплив короткочасного високотемпературного стресу на антиоксидантну активність різних видів мікроводоростей // Мат. наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми сучасної гідроекології» (Київ, 5–6 листопада 2013 р.). – К.: Ін-т гідробіології НАН України, 2013. – С. 66.
13. Незбрицкая И.Н. Влияние кратковременного теплового шока на содержание липидов у некоторых видов Cyanoprokaryota и Chlorophyta / И.Н. Незбрицкая, А.В. Курейшевич, А.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский // Мат. III Міжнар. наук. конф. «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології» (Донецьк, 24–27 лютого 2014р.). – Донецьк: Вид-во «Ноулідж», 2014. – с. 87–88.
14. Незбрицька І.М. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у деяких видів Суанопрокаруота та Chlorophyta в умовах впливу короткочасного теплового шоку / І.М. Незбрицька, А.В. Курейшевич, О.С. Потрохов, О.Г. Зінківський // V Всеукр. наук.-практ. конф. «Біологічні дослідження – 2014» (Житомир, 4–5 березня 2014р.) – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2014. – с. 77–80.
15. Незбрицька І.М. Зміна вмісту фікобіліпротеїдів у клітинах Суанопрокаруота за умов впливу підвищеної температури культурального середовища / І.М. Незбрицька, А.В. Курейшевич // Мат. міжнар. конф. «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Умань, 9–12 вересня 2014р.) – Умань: Видавець «Сочінський», 2014. – с. 133.
16. Незбрицька І.М. Зміни активності глутаматдегідрогенази у мікроводоростей за дії різних температурних режимів / І.М. Незбрицька, О.В. Василенко // Мат. наук.-практ. конф. «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2–3 квітня 2015 р.). – К.: Ін-т гідробіології НАН України, 2015. – С. 50–52.

Подяка

Авторка висловлює глибоку подяку своєму науковому керівнику д.б.н, с.н.с. А.В. Ліщук, д.б.н., проф. П.Д. Ключенку, д.б.н., проф. О.М. Арсану, д.б.н, с.н.с. Н.І. Кірпенко, д.б.н, с.н.с. О.С. Потрохову, к.б.н., с.н.с. О.Г. Зінківському та усім співавторам спільних наукових праць.

Анотація

Незбрицька І.М. Особливості функціонування представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за умов підвищення температури водного середовища. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.17 – гідробіологія. – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2017.

На тлі експериментальних та натурних досліджень встановлено закономірності змін інтенсивності росту, вмісту фотосинтетичних пігментів, активності ключових ферментів дихального та азотного метаболізму, а також стану про- та антиоксидантної систем у поширених у водоймах України видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota за умов впливу підвищених температур водного середовища. Встановлено, що характер реакції-відповіді різних видів водоростей за досліджуваними показниками був видоспецифічний і залежав від їх віку, а також величини та тривалості впливу температури.

На підставі одержаних результатів доведено, що з досліджуваних культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota найбільш стійкою до екстремально високих температур є нитчаста перифітонна ціанопрокаріота *Phormidium autumnale* f. *uncinata*, а найменш стійкою – зелена водорість *Tetraedron caudatum*. Показано, що представники Cyanoprokaryota, порівняно з Chlorophyta, характеризується вищим адаптаційним потенціалом до теплового чинника завдяки високій лабільності їх метаболізму, а також наявності допоміжних водорозчинних пігментів фікобіліпротеїнів, що мають сильні антиоксидантні властивості та відіграють важливу роль в забезпеченні стійкості ціанопрокаріот до цього стресора.

Ключові слова: Chlorophyta, Cyanoprokaryota, висока температура, ріст, фотосинтетичні пігменти, дихання, азотний обмін, прооксиданти, антиоксиданти.

Аннотация

Незбрицька И.М. Особенности функционирования представителей Chlorophyta и Cyanoprokaryota в условиях повышения температуры водной среды. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.17 – гидробиология. – Институт гидробиологии НАН Украины, Киев, 2017.

Диссертация посвящена изучению закономерностей изменений интенсивности роста, содержания фотосинтетических пигментов, активности ключевых ферментов дыхательного и азотного метаболизма, а также состояния

про- и антиоксидантной систем у культур распространенных в водоемах Украины видов Chlorophyta и Cyanoprokaryota в условиях воздействия повышенных температур.

Установлено, что в культурах Cyanoprokaryota *Aphanocapsa planctonica* и *Phormidium autumnale* f. *uncinata* максимальные величины биомассы и содержания фотосинтетических пигментов отмечаются при более высоких температурах выращивания (26 и 32 °C), чем в культурах Chlorophyta – *Desmodesmus communis* и *Tetraedron caudatum* (20 °C). При экстремально высокой температуре (38 °C) как у зеленых водорослей, так и у цианопрокариот наблюдалось существенное подавление роста и биосинтеза пигментов (хлорофилл *a*, каротиноиды). При этом, по исследуемым показателям цианопрокариота *Phormidium autumnale* f. *uncinata* оказалась наиболее устойчивым к воздействию экстремально высокой температуры, а зеленая водоросль *Tetraedron caudatum* – наименее устойчивой.

Показано, что между содержанием фотосинтетических пигментов (хлорофилл *a*, каротиноиды) в биомассе фитопланктона прибрежного участка Каневского водохранилища и температурой воды в летний сезон во время «цветения» воды Cyanoprokaryota существует обратная зависимость. С повышением температуры от 21 до 31 °C содержание пигментов в фитопланктоне уменьшается примерно в 2 раза, однако в природных условиях этот эффект наблюдается при более низких температурах, чем в условиях культур цианопрокариот.

Впервые исследована активность ферментов дыхательного метаболизма – сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы в культурах Chlorophyta и Cyanoprokaryota при различных температурах их выращивания. Выявлено, что у зеленых водорослей на уровне сукцинатдегидрогеназы при температурах 20, 26 и 32 °C значительных изменений в дыхательном метаболизме не наблюдается, тогда как активность цитохромоксидазы существенно изменяется в зависимости от температуры и возраста культур. У цианопрокариот в ответ на повышение температуры выращивания происходили значительные перестройки в энергетическом обмене, связанные с функционированием обоих ферментов, что обусловлено высокой лабильностью метаболических процессов у представителей Cyanoprokaryota и переходом их при неблагоприятных условиях на альтернативные пути энергообеспечения.

Показана важная роль глутаматдегидрогеназы в адаптации зеленых водорослей и цианопрокариот к действию высоких температур.

На основе проведенных экспериментов установлено, что у всех исследуемых видов Chlorophyta и Cyanoprokaryota в условиях влияния повышенных температур происходит усиление функционирования антиоксидантной системы. При это, впервые показано, что основная роль в защите клеток эукариотных и прокариотных водорослей от оксидативного стресса, обусловленного действием высоких температур, принадлежит не ферментам-антиоксидантам – супероксиддисмутазе, каталазе и глутатионпероксидазе, а низкомолекулярным антиоксидантам – каротиноидам и фикобилипротеинам.

Ключевые слова: Chlorophyta, Cyanoprokaryota, высокая температура, рост, фотосинтетическое пигменты, дыхание, азотный обмен, прооксиданты, антиоксиданты.

Summary

Nezbrytska I.M. Specifics of Chlorophyta and Cyanoprokaryota representatives functioning under conditions of increase in the aquatic environment temperature. - Manuscript.

The thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences in the speciality 03.00.17 - Hydrobiology - Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine, Kyiv, 2017.

Based on experimental and field research, the thesis reveals the patterns of changes in the intensity of growth, photosynthetic pigments content, activity of key enzymes of respiratory and nitrogen metabolism, as well as the state of pro- and antioxidant systems in Chlorophyta and Cyanoprokaryota species, widespread in the water-bodies of Ukraine, under conditions of elevated temperature of aquatic environment. It has been found that the response of various algae according to the parameters under study was species-specific and depended on their age and also on the temperature value (20, 26 и 32 and 38°C) and duration of exposure.

The obtained results have shown that a filamentous periphytic species *Phormidium autumnale* f. *uncinata* is the most resistant to extremely high temperature, and a green algae *Tetraedron caudatum* is respectively the least resistant among Chlorophyta and Cyanoprokaryota cultures under study.

It has been found, that the investigated species of Cyanoprokaryota, compared to Chlorophyta, are characterized by higher adaptive capacity to the elevated temperature due to significant lability of their metabolism and presence of additional water-soluble pigments – phycobiliproteins, which have strong antioxidant properties and make Cyanoprokaryota more resistant to stress abiotic factors.

Keywords: Chlorophyta, Cyanoprokaryota, high temperature, growth, photosynthetic pigments, respiration, nitrogen metabolism, prooxidants, antioxidants.