

УДК: 582.232:582.263(581.19:58.03)

І.М. НЕЗБРИЦЬКА, А.В. КУРЕЙШЕВИЧ, О.С. ПОТРОХОВ, О.Г. ЗІНЬКІВСЬКИЙ

Інститут гідробіології НАН України

пр. Героїв Сталінграду, 12, м. Київ, 04210, Україна

ВПЛИВ КОРОТКОЧАСНОГО ТЕПЛОВОГО ШОКУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ПРЕДСТАВНИКІВ СУАНОПРОКАРЮТА ТА CHLOROPHYTA

Досліджено вплив короткочасного теплового шоку на активність процесів ліпопероксидації у деяких представників Суанопрокарюта (*Anabaena cylindrica*, *Phormidium autumnale* f. *uncinata* і *Microcystis aeruginosa*) та Chlorophyta (*Tetraedron caudatum* і *Desmodesmus brasiliensis*). Встановлено, що характер реакції-відповіді досліджуваних водоростей на вплив даного абіотичного чинника залежить від їх видових особливостей. Показано, що найбільш чутливою до короткочасної дії підвищеної температури (38 ± 2 °C) виявилася водорість *A. cylindrica*, а найбільш стійкою – *Ph. autumnale* f. *uncinata*.

Ключові слова: Суанопрокарюта, Chlorophyta, тепловий шок, пероксидне окиснення ліпідів

Вплив на водорості несприятливих (зокрема, високих) температур є одним з найбільш поширених абіотичних стресорів. Оскільки у рослин відсутні механізми теплової регуляції, вони змушені постійно адаптуватися до коливань температури середовища існування [12]. В основі набуття рослинними організмами стійкості до екстремальних температур лежать структурні та фізіолого-біохімічні зміни в їх клітинах, обумовлені як специфічними так і неспецифічними реакціями на дію несприятливих чинників зовнішнього середовища [19]. Ранньою неспецифічною відповіддю водоростей на вплив різних стресових чинників, у тому числі і підвищеної температури, є збільшення рівня активних форм кисню (АФК), які ініціюють процеси пероксидного окиснення ліпідів [8, 10]. Надмірна активація ПОЛ у несприятливих умовах середовища супроводжується різноманітними модифікаціями метаболізму рослин, котрі зумовлені як безпосереднім окисненням ліпідів мембран, так і накопиченням продуктів ліпопероксидації та їхньою взаємодією з клітинними макромолекулами [5]. Такі зміни, згідно з даними деяких авторів, є одним з найбільш інформативних показників для оцінки ступеня впливу різних абіотичних чинників на водорості [18, 21].

Метою нашого дослідження було вивчити вплив короткочасного теплового шоку на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у деяких видів синьозелених та зелених водоростей. Процеси ПОЛ характеризують стан біомембран клітин, які першими сприймають вплив екологічних чинників, тому, оцінюючи інтенсивність пероксидації мембранних ліпідів, можна контролювати первинні процеси адаптації рослин до різних негативних впливів, в тому числі підвищеної температури оточуючого середовища [5].

Матеріал і методи досліджень

В дослідах використовували альгологічно чисті культури поширених у водоймах України мікроводоростей, які знаходилися на стаціонарній фазі росту: 3 синьозелених (*Anabaena cylindrica* Lemmerm. HPDP-1; *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (C. Agardh.) N.V. Kondrat. HPDP-36; *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenkin. HPDP-6); та 2 зелених (*Desmodesmus brasiliensis* (Bohl.) E. Hegewald IBASU-A 273 (= *Scenedesmus brasiliensis* (Bohl.) Hegewald) і *Tetraedron caudatum* (Corda) Hansg. IBASU-A 277) (табл. 1). Досліджувані водорості піддавали короткочасному тепловому шоку шляхом нагрівання колб з культурами на водяній бані при температурі 38–40 °C по 20 хв протягом трьох діб. Контролем слугували культури без теплової обробки. Водорості вирощували на середовищі Фітцджеральда № 11 в модифікації Цендера і Горхема [9] за температури 27 ± 2 °C та освітленості 3500–4000 лк з чергуванням світлового та темного періодів 16:8.

Еколого-географічна характеристика досліджуваних видів водоростей

Види водоростей	Приуроченість до місця існування
<i>Anabaena cylindrica</i>	Планктон [1], перифітон [2]
<i>Phormidium autumnale f. uncinata</i>	Бентос [1], перифітон [17],
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Планктон [1]
<i>Tetraedron caudatum</i>	Планктон , Бентос [1]
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>	Планктон , Бентос [1]

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів оцінювали за зміною вмісту основних молекулярних продуктів цього процесу – дієнових кон'югатів (ДК) [15], гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [13] та малонового альдегіду (МА) [16]. Загальний вміст ліпідів визначали за методом [20].

Результати досліджень та їх обговорення

Одними із найбільш ранніх молекулярних продуктів ПОЛ є дієнові кон'югати [11]. Отримані експериментальні дані свідчать, що після короточасної теплової обробки у клітинах *A. cylindrica* спостерігалось незначне зниження вмісту цих продуктів (на 10 % відносно контролю), або вони досить швидко перетворилися до ГПЛ. Встановлено, що у досліджуваній водорості в умовах дії стресового чинника концентрація ГПЛ підвищилася на 21 % в порівнянні з контролем (див. табл. 2). Надмірне накопичення цих продуктів ПОЛ негативно позначається на функціональному стані біомембран.

Ступінь ліпідної пероксидації у рослин найчастіше корелює з нагромадженням МА – кінцевого стабільного продукту ПОЛ [14]. Результати визначення цього показника у *A. cylindrica* показали, що за дії теплового шоку його рівень вірогідно зріс відносно контролю (на 57%). МА є високотоксичною сполукою і здатний взаємодіяти з вільними аміногрупами білків та компонентами фосfolіпідів, що може призвести до зміни властивостей як мембран загалом, так і окремих їхніх складових [10]. Відомо, що його вміст у клітинах рослин є одним із найважливіших показників їх стійкості до дії стресових чинників [3, 4]. Отже, значне накопичення МА у досліджуваній водорості свідчить про інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та слабку її стійкість до короточасного впливу теплового шоку. Припускають, що збільшення продуктів ПОЛ у клітинах може, з одного боку, свідчити про пошкодження, а з іншого – бути індуктором захисних реакцій [6].

У *Phormidium autumnale f. uncinata* нами відмічено протилежну тенденцію в характері перебігу ПОЛ в умовах впливу короточасного теплового шоку. Так, після дії даного абіотичного чинника у водорості спостерігалось значне інгібування процесів ПОЛ, яке виражалось в зниженні вмісту молекулярних продуктів ліпопероксидації: ДК – на 60 %, ГПЛ та МА – на 62 % в порівнянні з контрольними показниками (див. табл. 2). Відомо, що суттєва різниця у розвитку ПОЛ спостерігається у рослин із різною сприйнятливістю до впливів: різка активація в чутливих і гальмування у стійких (толерантних) видів [7]. Важливо відзначити, що *Ph. autumnale f. uncinata* є одним з домінантів в фітоперифітоні дніпровських водосховищ [17]. Він інтенсивно розвивається на стінах шлюзів, на буях, берегових укосах, тобто є досить стійким до впливу різних екологічних чинників.

Таблиця 2

Вміст продуктів ПОЛ в біомасі деяких представників Cyanoprokaryota за умов впливу короточасного теплового шоку

Культури водоростей	Дієнові кон'югати, мкМ/мг ліп., M±m	Гідропероксидації ліпідів, у.о./мг ліп., M±m	Малоновий альдегід, мкМ/мг ліп., M±m
<i>Anabaena cylindrica</i>	Контроль	0,2311±0,0187	0,0496±0,0048
	Дослід	0,2094±0,0313	0,0779±0,0051
<i>Phormidium autumnale f. uncinata</i>	Контроль	0,4297±0,0099	0,0739±0,0049
	Дослід	0,1709±0,0259	0,0283±0,0023
<i>Microcystis aeruginosa</i> Контроль			

Дослід	0,1256±0,0007 0,1176±0,0042	0,5889±0,0050 0,5518±0,0028	0,0983±0,0008 0,1315±0,0031
--------	--------------------------------	--------------------------------	--------------------------------

Встановлено, що у *M. aeruginosa* в умовах впливу підвищеної температури спостерігалось незначне зниження рівня ДК та ГПЛ в порівнянні з контролем (на 6 %), але концентрація МА, навпаки, зросла на 34 %. Підвищення вмісту МА у клітинах досліджуваної водорості свідчить про посилення вільнорадикальних окиснювальних процесів, що в свою чергу, призводить до деструкції ліпідних компонентів біомембран.

Результати експериментальних досліджень показали, що у зеленої водорості *T. caudatum* після короткочасної дії теплового шоку концентрація ДК зменшилася на 14 %, що, на нашу думку, знову ж таки, могло бути пов'язано із їх швидким перетворенням до ГПЛ. Виявлено, що вміст останніх підвищився на 25 % у порівнянні з контролем. Слід зазначити, що рівень МА у дослідних варіантах практично не відрізнявся від контрольних значень (див. табл. 3). Отже, стресова дія в цих умовах не виходила за межі фізіологічних реакцій.

Таблиця 3

Впливу короткочасного теплового шоку на вміст продуктів ПОЛ в біомасі деяких представників Chlorophyta

Культури водоростей	Дієнові кон'югати, мкМ/мг ліп., M±m	Гідропероксиди ліпідів, у.о./мг ліп., M±m	Малоновий альдегід, мкМ/мг ліп., M±m
<i>Tetraedron caudatum</i>			
Контроль	0,1155±0,0005	0,2108±0,0006	0,0272±0,0005
Дослід	0,0995±0,0047	0,2640±0,0064	0,0279±0,0012
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>			
Контроль	0,1573±0,0071	0,3975±0,0058	0,0161±0,0007
Дослід	0,0886±0,0042	0,3589±0,0178	0,0139±0,0004

У іншій зеленої водорості – *D. brasiliensis* в умовах впливу підвищеної температури (38±2 °С) спостерігалась тенденція до зниження вмісту усіх досліджуваних продуктів ПОЛ. Так, кількість первинних продуктів ПОЛ – ДК та ГПЛ – зменшилася на 44 та 10 % відповідно, а вміст вторинного продукту пероксидного окиснення – МА знизився на 14 % у порівнянні з контролем (табл. 2), що свідчить про уповільнення вільнорадикальних окиснювальних процесів у клітинах досліджуваної водорості та ефективну роботу систем захисту, які перешкоджають розвитку оксидативного стресу.

Висновки

Отримані експериментальні дані дають підстави стверджувати, що вплив короткочасної дії підвищеної температури (38±2 °С) призводив до посилення процесів ліпопероксидації у *A. cylindrica* та *M. aeruginosa*, що свідчить про чутливість цих видів до дії даного стресового чинника. Встановлено, що короткочасний тепловий шок практично не впливав на інтенсивність ПОЛ у *T. caudatum*. В той же час, у *Ph. autumnale f. uncinata* та *D. brasiliensis* цей абіотичний чинник викликав інгібування процесів ліпопероксидації. Отже, ці види характеризуються резистентністю до короткочасної дії теплового шоку. Таким чином, характер реакції-відповіді досліджуваних водоростей на короткочасний вплив підвищеної температури, сила цієї реакції, і її спрямованість залежить від їхніх видових особливостей, і може бути різною у видів в межах одного відділу.

1. Барінова С.С. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды / С.С. Барінова, Л.А. Медведева, О.В. Анисимова. — Тель-Авив, 2006. — 498 с.
2. Визначник прісноводних водоростей Української РСР. I. Синьозелені водорості – Cyanophyta. Ч. 2., Клас гормогонієві — Hormogoniophyceae / Н. В. Кондратьєва. — К.: Наук. думка, 1968. — 523 с.
3. Демин І.Н. Участие Δ12-ацил-липидной десатуразы в формировании устойчивости растений картофеля к гипотермии: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: спец. 03.01.05 “Физиол. и биохим. раст.” / И.Н. Демин. — М., 2010. — 25 с.
4. Капылова Л. В. Окислительный стресс в растительных клетках ячменя при совместном действии гипертермии и фитопатогенной инфекции / Л. В. Капылова, Л.М. Абрамчик, Л.Ф. Кабашникова / [Електронний ресурс] / Режим доступу : <http://www.elib.bsu.by/bitstream/123456789/32159/1>.
5. Кияк Н. Вплив абіотичних стресових факторів на інтенсивність ПОЛ і активність супероксиддисмутазу у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw. / Н. Кияк, І. Микієвич // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біол. — 2010. — Вип. 53. — С. 181—187.

6. Колупасев Ю.Є. Стресові реакції рослин (молекулярно-клітинний рівень) / Ю.Є. Колупасев. — Харків: Харк. держ. аграрн. ун-т. — 2001. — 173 с.
7. Кордюм Е.Л. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / [Е.Л. Кордюм, К.М. Сытник, В.В. Бараненко и др.]. — К.: Наук. думка, 2003. — 277 с.
8. Курганова Л.Н. Перекисное окисление липидов – одна из возможных компонент быстрой реакции на стресс / Л.Н. Курганова // СОЖ. — 2001. — № 6. — С. 76—78.
9. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / [Л.А. Сиренко, А.И. Сакевич, Л.Ф. Осипов и др.]. — К.: Наук. думка, 1975. — 247 с.
10. Нижник Т.П. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів і активність антиоксидантних ферментів у листках картоплі за дії посухи та полістимуліну К / Т.П. Нижник, І.П. Григорюк, Л.М. Михальська // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 1. — С. 130—135.
11. Пестова Е.Л. Влияние салициловой кислоты на состояние перекисного гомеостаза растений гороха при преадаптации к тепловому шоку: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук : спец. 03.00.12 “Физиол. и биохим. раст.” / Е.Л. Пестова. — Нижний Новгород, 2007. — 22 с.
12. Попов В.Н. Перекисное окисление липидов при низкотемпературной адаптации листьев и корней теплолюбивых растений табака / В. Н. Попов, О. В. Антипина, Т. И. Трунова // Физиол. раст. — 2010. — Т. 57, № 1. — С. 153—156.
13. Романова Л.А. Методы определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония / Л.А. Романова, И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 64—66.
14. Россихина-Галича Г. Компоненти прооксидантно-антиоксидантної системи вегетативних органів рослин кукурудзи як показники їх реакції на дію гербіцидів / Г. Россихина-Галича // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біол. — 2013. — Вип. 62. — С. 315—324.
15. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 63—64.
16. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66—68.
17. Шевченко Т.Ф. Видовой состав водорослей фитоперифитона водохранилищ Днепровского каскада / Т.Ф. Шевченко // Гидробиол. журн. — 2007. — Т. 43, № 3. — С. 3—44.
18. Butow B. The synergistic effect of carbon concentration and high temperature on lipid peroxidation in *Peridinium gatunense* / B. Butow, D. Wynne, A. Sukenik // J. Plankton Res. — 1998. — Vol. 20. — P. 355—369.
19. Guy C. Metabolomics of temperature stress / [C. Guy, F. Kaplan, J. Kopka, D. Hinch] // Physiol. plant. — 2008. — 132. — P. 220—235.
20. Knight J.A. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanilin reaction for estimating total serum lipids / J.A. Knight, Sh. Anderson, J.M. Rawle // Clinical chemistry. — 1972. — Vol. 18, № 3. — P. 199—202.
21. Rijstenbil J.W. Assessment of oxidative stress in the planktonic diatom *Thalassiosira pseudonana* in response to UVA and UVB radiation / J.W. Rijstenbil // J. Plankton Res. — 2002. — Vol. 24, № 12. — P. 1277—1288.

И.Н. Незбрицкая, А.В. Курейшев, О.С. Потрохов, О.Г. Зиньковский
Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННО ТЕПЛОВОГО ШОКА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЦИАНОПРОКАРЮТА И CHLOROPHYTA

Исследовано влияние кратковременного теплового шока на активность процессов липопероксидации у некоторых представителей Цианопрокариота (*Anabaena cylindrica*, *Phormidium autumnale f. uncinata* и *Microcystis aeruginosa*) та Chlorophyta (*Tetraedron caudatum* и *Desmodesmus brasiliensis*). Установлено, что характер ответной реакции исследуемых водорослей на воздействие данного абиотического фактора зависит от их видовых особенностей. Показано, что наиболее чувствительной к кратковременному действию повышенной температуры (38±2 °С) оказалась водоросль *A. cylindrica*, а наиболее устойчивой – *Ph. autumnale f. uncinata*.

Ключевые слова: Цианопрокариота, Chlorophyta, тепловой шок, перекисное окисление липидов

I.N. Nezbyrka, A.V. Kureyshevich, A.S. Potrokhov, O.G. Zinkovskiy
Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv

INFLUENCE OF SHORT-TERM HEAT SHOCK ON THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION IN REPRESENTATIVES OF CYANOPROKARYOTA AND CHLOROPHYTA

The influence of short-term heat stress on the intensity of lipid peroxidation processes in representatives of Cyanoprokaryota (*Anabaena cylindrica*, *Phormidium autumnale* f. *uncinata*, *Microcystis aeruginosa*) and Chlorophyta (*Tetraedron caudatum*, *Desmodesmus brasiliensis*) was studied. It has been shown that character of reaction of algae investigated on the influence of this abiotic factor depends on their species peculiarities. The most sensitive to short-term effect of high temperature (38 ± 2 °C) was alga *A. cylindrica*, and the most resistant - *Ph. autumnale* f. *uncinata*.

Keywords: Cyanoprokaryota, Chlorophyta, heat shock, lipid peroxidation

Рекомендує до друку
О.Б. Столяр

Надійшла 10.01.2014