

7. Фтемова Л. В. Витоки розвитку біотехнології рослин в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України / Л.В. Фтемова // Гілея: науковий вісник. Збірник наукових праць / Гол. ред. В.М. Вашкевич. – К.: ВІР УАН, 2013. – Випуск 79 (№ 12). – С. 75–79.

Гоцуляк Л.

Науковий керівник – Боднар О.І.

## ВПЛИВ СЕЛЕНУ НА РІСТ І РОЗВИТОК МІКРОВОДОРСТЕЙ

Дослідження впливу селену на ростові та метаболічні процеси представників морського та прісноводного фітопланктонних угруповань має велике значення. Це пояснюється виключно важливою роллю фітопланктону в біотрансформації селену у водних екосистемах, завдяки його первинному положенню в трофічному ланцюзі забезпечується функціонування наступних ланок. [8, 7, 19]. Водночас, в умовах інтенсивних культур для водоростей різних таксономічних видів вчені намагаються з'ясувати, за дії яких саме концентрацій селену з'являються перші ультраструктурні зміни у клітинах, які типи пошкоджень виникають при цьому та які концентрації призводять до загальної клітинної деструкції і можливої масової загибелі водних рослин і відповідно тваринних організмів [5, 9, 18, 21, 22, 23].

Як вже зазначалося, що для більшості представників морського фітопланктону  $Se^{+4}$  і  $Se^{+6}$  в концентраціях, які зазвичай реєструються в морі ( $10^{-10}$ - $10^{-7}$  М) [16], не лише не токсичний, але й стимулює ростові процеси водоростей. Разом з тим, більш високі концентрації селену в середовищі (особливо селенати  $Se^{+6}$ ) у багатьох видів водоростей знижують рухову активність і швидкість росту, викликають порушення структури і метаболізму клітин [1, 9, 10, 27].

Так, у зеленої водорості *Dunaliella salina* високі дози селену спричиняли значні ультраструктурні зміни у мітохондріях, хлоропластах, вакуолях [5]. За дії Se у концентрації 5,0 мг/л було відмічено інгібування росту клітин, кількість хлорофілу а та екскреторних вакуолей зменшувалася, утворювалася одна велика вакуоля, яка щільно контактувала з ядром, що в результаті призводило до його деструкції. Вміст 10,0 мг/л селену у середовищі зумовлював різке зниження ростових процесів, руйнування клітини *D. salina* здійснювалося шляхом виходу вмісту екскреторних вакуолей у цитоплазму та ядро, і як наслідок спостерігався загальний клітинний аутоліз, що призводив до загибелі значної частини популяції *D. salina*. Зазначені концентрації селену мали однозначний токсичний вплив на водорість, оскільки навіть пересів на чисте середовище не запобіг загибелі популяції *Dunaliella salina* [5, 17]. У цих самих експериментах низькі кількості селену (0,01 та 0,5 мг/л) стимулювали збільшення чисельності клітин у культурі на 12 та 7 % відповідно [4,5].

Схожі результати щодо ультраструктурних змін у мембранах мітохондрій, руйнування тилакоїдів хлоропластів та зниження кількості хлорофілу у водорості *Chlamydomonas reinhardtii* під впливом селену були отримані у [12, 21].

У роботі [22] показано, що концентрації селену у середовищі нижчі від 5,0 мг/л стимулювали ріст *Spirulina platensis*, *Dunaliella salina*, *Dunaliella bardawill* та *Phaeodactylum tricornutum*. Разом з тим, мікроелемент у кількості 10,0 мг/л зумовлював пригнічення росту у *D. salina* та *D. bardawill*, але воно було більше виражене, ніж у *S. platensis* і *P. tricornutum*. Зі збільшенням концентрації селену ріст клітин пропорційно знижувався – для *P. tricornutum* за дії концентрації 20 та 25 мг/л, а для *S. platensis* за дії концентрацій у 50, 100 та 200 мг/л. Також зазначено, що вплив токсиканту на культуру водоростей *Ph. tricornutum* мав часозалежний характер: протягом перших 10-12 діб дія навіть найвищої дози не спричиняла порушення ростових процесів, проте далі гальмування росту і розвитку клітин водорості були суттєвими (до 55%). Найвитривалішою до впливу селену виявилася *S. platensis* [22].

Ще в одній роботі, яка присвячена дослідженню *Spirulina platensis* [25], виявлено, що концентрація селеніту натрію у 400 мг/л є максимально допустимою для внесення у середовище культивування для підвищення продуктивності і відповідно збільшення біомаси спіруліни. Найоптимальнішими для росту і розвитку культури ціанеї є концентрації в діапазоні 0,5 – 40 мг/л.

Майже такими самими виявився ефект впливу селену на ріст і розвиток *Spirulina maxima*, коли за дії концентрації селену у 40 мг/л спостерігали початок інгібування активності клітин водорості, а доза у 400 мг/л Se виявилася летальною для *S. maxima*. Оптимальними для цієї ціанобактерії були концентрації в межах 0,4 – 20 мг/л [27].

Ймовірно, стимулюючий ефект селеніту на водорості *Spirulina platensis* зумовлений активізацією Se-залежних антиоксидантних ферментів, які ефективніше здійснюють видалення та знешкодження вільних радикалів, що, у свою чергу, призводило до зниження темпів старіння клітин водоростей [25]. Так, зокрема, селено-залежна глутатіонпероксидаза була виявлена в *Euglena gracilis*, *E. gracilis* var. *bacillaris* і *Astasia longa* [13, 14]. Достатньо високий рівень глутатіон-пероксидазної активності мав місце у клітинах діатомеї *Thalassiosira pseudonana* [15]. Тут результати дослідів показали, що при культивування діатомеї *Th. pseudonana* на штучній морській воді з додаванням 75Se- натрій селеніту у природній концентрації ( $10^{-8}$  М), значна частина селену була зосереджена у селеноензимі – глутатіонпероксидазі, а збільшення концентрації селену у середовищі культивування зумовлювало активізацію синтезу глутатіону [15, 24].

Також у цій та інших роботах, зазначено, що деякі мікроорганізми *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Ralstonia metallidurans* та ціанеї *Spirulina platensis* здатні чинити опір неорганічним сполукам селену через накопичення його у клітинах при нижчих концентраціях та

відновлювати їх до  $\text{Se}^0$  за дії вищих концентрацій, так як  $\text{Se}^0$  володіє низькою розчинністю і тому є менш токсичним [11, 20, 25]. При високому рівні відновлювального процесу, за дії концентрації селеніту більше 500 мг/л, у культурі водоростей *Spirulina platensis* відмічали поступове забарвлення середовища у червоний колір, як результат утворення значної кількості  $\text{Se}^0$  та випадання його в осад [3, 25].

При дослідженні впливу селену у високих концентраціях на мікрководорості [23] припустили, що цей мікроелемент може значною мірою впливати на активність та перебіг біохімічних реакцій в енергетичних циклах, які забезпечують необхідною енергією життєдіяльність клітин. Це спричиняло зменшення кількості необхідних інтермедіатів, що у свою чергу позначалося на темпах ростових процесів водоростей [22, 23].

Разом з тим, встановлено [6], що при дефіциті селену у середовищі вміст поліненасичених жирних кислот ряду  $\omega$ -3 у клітинах *Scenedesmus quadricauda* зменшувалася вдвоє порівняно з контролем, який вирощували у середовищі з селеном.

Значне зниження стійкості водорості *Scenedesmus quadricauda* до токсичного впливу селену за його вмісту у середовищі у 10 та 200 мг/л мало місце при дефіциті сірки. Додаткове внесення сполук і від 0,4 до 400 мМ  $\text{SO}_4^{2-}$  частково компенсувало негативний вплив селену, так як приріст біомаси зеленої водорості збільшувався майже у 2 рази [21]. В той же час автори спостерігали стресову реакцію *S. quadricauda* на цитотоксичність селену у вигляді підвищення активності тіоредоксин-редуктази у 2 – 4 рази, яка мала часову та концентраційну залежність [21]. Крім того, досліджено, що додаткове внесення сульфату натрію у концентраціях 550 і 1100 мг/л у поживне середовище знижувало токсичний вплив високих доз селеніту 500 мг/л на ростові процеси культури ціанобактерії відповідно на 28 та 50% [25].

У роботі [26] при дослідженні високих концентрацій селеніту натрію на *Spirulina maxima*, були отримані безпосередні докази участі селену в елімінації гідроксо-радикалів ( $\cdot\text{HO}$ ) у клітинах водорості за дії вмісту  $\text{Se}^{+4}$  більше, ніж 20 мг/л. При збільшенні вмісту цього мікроелементу вище за вказану кількість, спостерігалася активація перекисного окислення ліпідів, яка відмічалася у збільшенні продукування маломолекулового діальдегіду, зменшенні вмісту загальних ліпідів, каротиноїдів, поліненасичених жирних кислот та підвищенні частки насичених жирних кислот. Слід зазначити, що низькі концентрації селену (до 20,0 мг  $\text{Se}^{+4}$ /л) стимулювали утворення хлорофілів, зокрема хлорофілу а, тоді як високі – інгібували його біосинтез [26].

Результати експериментів [2] щодо впливу різних концентрацій селену на ріст *S. platensis* показали, що діапазон від 0,5 до 20,0 мг  $\text{Se}/\text{л}$  в жодному із варіантів досліду пригнічення росту культури не викликав. Криві динаміки приросту біомаси у колбах з додаванням селену у межах 1 – 20 мг/л були аналогічні кривій контролю [3].

Отже, прогнозування реакції фітопланктонних угруповань на гостре і хронічне забруднення селеном повинно ґрунтуватися на аналізі особливостей геохімічного циклу селену в даному регіоні, оцінки обсягів асиміляції і трансформації селену іншими компонентами водних екосистем (бактеріоплактоном, макролітами, тваринами), а також визначенні домінуючих у фітопланктоні видів. Встановлення оптимальних концентрацій мікроелемента для росту культур у живильному середовищі сприятиме зростанню ефективності масового культивування мікрководоростей для отримання збагаченої селеном біологічно активної біомаси.

Отже, проаналізовані дані свідчать про принципову схожість окремих процесів метаболізму селену у їх клітинах, зокрема його участь в регуляції та активації антиоксидантних ферментозалежних процесів, перерозподіл внутрішньоклітинного пулу селену, а саме перетворення неорганічних токсичних сполук селену та їх акумуляція в органічних макромолекулах.

Розглянуті дослідження дають змогу стверджувати, що як прісноводні, так і морські водорості здатні у достатній кількості накопичувати селен за його високих концентрацій у середовищі зростання та включати його у внутрішньоклітинні високомолекулярні сполуки. Це можна розглядати як механізм детоксикації та як спосіб зберігання селену клітинами водоростей. Крім того, мікрководорості можна використовувати як найбільш продуктивний об'єкт для отримання селензбагаченої біомаси при виробництві біологічно активних добавок та продуктів харчування.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Минюк Г.С. Влияние селена на жизнедеятельность морских и пресноводных микроводорослей (обзор) / Г.С. Минюк, И.В. Дробецкая // Экология моря. – Вып. 54. – 2000. – С. 26-37.
2. Минюк Г.С. Влияние селена на рост микроводоросли *Spirulina platensis* (Nords.) в накопительной и квазинепрерывной культурах / Г.С. Минюк, Р.П. Тренкеншу, А.В. Алисиевич, И.В. Дробецкая // Экология моря. – Вып. 54. – 2000. – С. 42 – 49.
3. Попова В.В. Влияние селена и цинка на рост *Spirulina platensis* и оптимизация внутриклеточного накопления этих элементов : автореф. дис. на соискание учен.степени канд. биол. наук: спец. 03.00.23 «Биотехнология» / В.В. Попова. – Москва, 2004. – 22 с.
4. Реунова Ю.А. Влияние селена на морфо-функциональные характеристики морской одноклеточной водоросли *Dunaliella salina* (Chlorophyta) : автореф. дис. на соискание учен.степени канд. биол. наук: спец. 03.00.16 «Экология» / Ю.А. Реунова. – Владивосток, 2007. — 20 с.
5. Реунова Ю.А. Влияние селена на рост и ультраструктуру клеток морской одноклеточной водоросли *Dunaliella salina* (Chlorophyta) / Ю.А. Реунова,
6. Ahlgren G., Forsberg C. Effects of selenium on fatty acid content in green alga *Scenedesmus quadricauda* // Meet. Phycol. Soc. America, Ames, IA (USA), 1-5 Aug. 1993. – J. Phycol. – 1993. Vol. 29, № 3. – suppl. – P. 20.
7. Araie H., Shiraiwa Y. Selenium Utilization strategy by microalgae : Review // Molecules. – 2009. – Vol. 14. – P. 4880 – 4891.

8. Besser J. M., Ganfield T.J., La-Point T.W. Bioaccumulation of organic and inorganic selenium in laboratory food chain // *Environ. Toxicol. Chem.* – 1993. – Vol. 12, N 1. – P. 57 – 72.
9. Boisson F., Romeo M., Gnassia-Barelli M. Effect of selenium on marine algae // *Mar. Tech. Rep. Ser.* – 1994. – Vol. 79. – P. 13 – 31.
10. Hu M., Yang Y., Martin J.M., Yin K., Harrison P.J. Preferential uptake of Se (IV) over Se (VI) and the production of dissolved organic Se by marine phytoplankton // *Marine Environ. Research.* – 1996. – Vol. 44, № 2. – P. 225 – 231.
11. Kessi J., Ramuz M., Wehrli E., Spycher M., Bachofen R. Reduction of selenite and detoxification of elemental selenium by the phototrophic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1999. – Vol. 65. – P. 4734 – 4740.
12. Morlon H., Fortin C., Floriani M. et al. Toxicity of selenite in the unicellular green algae *Chlamydomonas reinhardtii*: comparison between effects at the population and sub-cellular level // *Aquat. Toxicol.* – 2005. – Vol. 73, N 1. – P. 65 – 78.
13. Overbaugh J.M., Fall R. Detection of glutathione peroxidases in some microalgae // *FEMS Microbiol Lett.* – 1982. – 13:371-375 27.
14. Overbaugh J.M., Fall R. Characterization of a selenium independent glutathione peroxidase from *Euglena gracilis* // *Plant Physiol.* – 1985. – Vol. 77. – P. 437 – 442.
15. Price N.M., Harrison P.J. Specific selenium containing macromolecules in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* // *Plant Physiol.* – 1988. – Vol. 86. – P. 192 – 199.
16. Qiao X.F., Lan S.H., Lin J.Y. Fluorimetric determination of Se (IV), Se (VI) and total selenium in sea water // *Mar. Sci Bull.* -1985. - 4.-P. 13-17.
17. Reunova Yu.A., Aizdaicher N.A., Khristoforova N.K., Reunov A.A. Growth and ultrastructure of the marine unicellular alga *Dunaliella salina* (Chlorophyta) after chronic selenium intoxication // *Rus. J. of Marine Biology.* – 2007. – Vol. 33, № 3. – P. 166-172.
18. Rhodes L., Burke B. Morphology and growth characteristics of *Chrysochromulina* species (Haptophyceae = Prymnesiophyceae) isolated from New Zealand coastal waters // *New Zealand J. Of Marine and Freshwater Research.* – 1996. – Vol. 30. – P. 91 – 103.
19. Riedel G.F., Sanders J.G., Gilmour C.C. Uptake, transformation and impact of selenium in fresh water phytoplankton and bacterioplankton communities // *Aquat. Microb. Ecol.* – 1996. – Vol. 11, № 1. – P. 43-51.
20. Roux M., Sarret G., Pignot-Paintrand I., Frontecave M., Coves J. Mobilization of selenite by *Ralstonia metallidurans* CH34 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – Vol. 67. – P. 769 – 773.
21. Umysová D., Vítová M., Doušková I., Bišová K. et al. Bioaccumulation and toxicity of selenium compounds in the green alga *Scenedesmus quadricauda* // *BMC Plant Biology.* – 2009. – Vol. 9, №58. – doi:10.1186/1471-2229-9-58: 1-16.
22. Wang Dazhi, Cheng Zhaodi, Li Shaojing, Gao Yahui Toxicity and accumulation of selenite in four microalgae // *Chinese Journal of Oceanology and Limnology.* – 2003. – Vol. 21, № 3. – P. 280 – 285.
23. Wong, D., Oliveira L. Effects of selenite and selenate toxicity on the ultrastructure and physiology of three species of marine microalgae // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* – 1991b. – Vol.48. – P. 1201 – 1211.
24. Yamaoka Y., Takimura O., Fuse H. Biosynthesis of glutathione and environmental factors relating to selenium accumulation by algae // *Program of the First International Marine Biotechnology Conference (IMBC'89).* – Tokyo. – 1989. – P. 63.
25. Zhi-Yong Li, Si-Yuan Guo, Lin Li Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation // *Bioresource Technology* – 2003. – Vol. 89. – P. 171 – 176.
26. Zhou Z. G., Liu Z. L. Effects of selenium on lipid peroxidation in *Spirulina maxima* // *Botanica Marina.* – 1997. – Vol. 40. – P. 107 – 102.
27. Zhou Z. G., Liu Z. L. Effects of selenium on the growth and selenium contents of *Spirulina maxima* // *Mar. Sci. Haiyang Kexue.* – 1997. – Vol. 5. – P. 42 – 45.

*Владимир І.*

*Науковий керівник – проф. Дробик Н.М.*

## **ПРОБЛЕМИ ЗАБРУДНЕННЯ ВІДХОДАМИ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА У М. ТЕРНОПІЛІ ТА ШЛЯХИ ЇХ ВИРІШЕННЯ**

Забруднення відходами у наш час в Україні є надзвичайно гострою і актуальною проблемою, що потребує негайного вирішення. Відходи здійснюють негативний вплив на усі системи органів організму людини [5]. Проблема поводження з відходами, у першу чергу – побутовими, гостро стоїть в усіх країнах світу, у тому числі у пострадянських державах, де екологічні питання традиційно вважалися другорядними. Це стосується й України, де рівень розвитку інфраструктури збору, переробки та утилізації сміття є низьким. Збір та переробка відходів, на території України – є важливою екологічною проблемою, через її багаторічну енергетично-сировинну спеціалізацію, а також низький технологічний рівень промисловості. Саме це призводить до утворення та накопичення значної кількості відходів. Способом вирішення питань, пов'язаних з ліквідацією чи обмеженням негативного впливу твердих токсичних відходів на навколишнє природне середовище та здоров'я людини в Україні, на рівні держави є реалізація законів України "Про відходи" та "Про