

БІОХІМІЯ

УДК 576.314:576.344:582

doi: 10.25128/2078-2357.25.4.2

¹О. І. БОДНАР , ²А. В. ДОВБУШ , ¹А. І. РАКОЧИЙ , ¹Р. В. КОЛЕСНИЦЬКИЙ ,
¹В. В. ГРУБІНКО 

¹Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса 2, Тернопіль, 46015

²Тернопільський національний медичний університет імені Івана Горбачевського
майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001

E-mail: bodnar@tnpu.edu.ua

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ У КЛІТИНАХ CHLORELLA VULGARIS ЗА ДОДАТКОВОЇ ДІЇ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

У статті досліджено структурні та функціональні зміни мембран одноклітинної водорості *Chlorella vulgaris* за впливу мікроелементів Селену, Цинку та Хрому. Мембрани розглянуто як первинну ланку адаптації, що забезпечує гомеостаз у стресових умовах. Експерименти проводили на альгологічно чистій культурі за додавання натрію селеніту окремо та у поєднанні з солями Zn і Cr. Морфологічні зміни оцінювали методами світлової мікроскопії та морфометрії, а функціональний стан – за загальною АТФ-азною активністю.

Визначено, що досліджувані мікроелементи обумовлюють достовірне потовщення мембран (ймовірно, через формування вторинних концентричних систем) та зростання зернистості цитоплазми. Порівняно з контролем, товщина мембран збільшилася у 1,5 раза за дії Se (IV), у 1,6 раза – Se (IV)+Zn (II) та у 2,2 раза – Se (IV)+Cr (III). Ці модифікації супроводжувалися зміною активності мембранних АТФ-аз, із максимальним зростанням на 28,4 % за спільної дії Se та Cr. Відсутність порушень іонного транспорту свідчить про адаптивний, а не токсичний характер реакцій. Результати підтверджують ефективність мембранно-опосередкованих механізмів адаптації *Ch. vulgaris*, що дозволяє використовувати її для біоіндикації стану водного середовища та різноманітних біотехнологічних цілей.

Ключові слова: *Chlorella vulgaris*, клітинні мембрани, мікроелементи, АТФ-ази, адаптація.

Будова клітинних компонентів та процеси транспорту речовин крізь мембрани мають безпосередній взаємозв'язок і виступають тригерним інструментом під час зміни метаболічних режимів усередині клітини. У зв'язку з цим, трансформації в біомембранах обумовлюють життєдіяльність клітин і вважаються ключовим методом корекції життєвих процесів клітини чи організму загалом у випадку коливання умов зовнішнього середовища [2, 22, 32].

Що стосується поверхневого апарату та мембранних систем рослин, то, попри універсальність базових закономірностей їхньої побудови, їм властива специфічність на рівні видів за морфологічними та біохімічними ознаками. Подекуди така варіативність виявляється навіть у межах окремих популяцій одного виду, будучи зумовленою чинниками навколишнього середовища [22, 23] та маючи адаптивний характер. З огляду на зазначене, мембранний склад і



©2025 О. І. Боднар та співавт. Стаття відкрита для доступу та розповсюджується на умовах ліцензії [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), яка дозволяє необмежене використання, розповсюдження та відтворення на будь-якому носії за умови належного цитування оригінальної роботи.

архітектоніка відіграють бар'єрну та регулюючу функції, запускаючи послідовність перетворень у будові всієї клітини загалом та її окремих структур, що, зрештою, визначає вектор та швидкість метаболічних реакцій [1, 33].

Так, одним із результатів захисно-компенсаторної адаптації клітин водоростей та водних рослин до несприятливих чинників є унікальне явище потовщення мембрани та утворення «вторинної клітинної стінки» («мультиплікація мембран»). Цей процес раніше спостерігали у деяких водних рослин, риб і грибів за дії чинників середовища [7, 18, 29, 30], а згодом виявили за дії іонів Цинку та Плюмбуму і дизельного палива у прісноводних водоростей *Chlorella vulgaris* та вищих водних рослин *Elodea canadensis* і *Lemna minor* [4, 13].

Тому, враховуючи важливість збереження цілісності і функціональності мембран й транспортних процесів, особливо в одноклітинних водоростей, які є основою сталості і біопродукційності водних екосистем та перспективним об'єктом різноаспектних біотехнологій, ми дослідили морфологічні зміни, ймовірність формування системи вторинних мембран та активність АТФ-ази у *Chlorella vulgaris* за дії мікроелементів Селену, Цинку та Хрому. Ці мікроелементи мають особливу вагу з погляду біотехнологій та біоремедіації, а також їх прояву як важливих фізіологічних компонентів за норми та небезпечних чинників у надлишку.

Матеріали та методи досліджень

Об'єктом лабораторного дослідження слугувала альгологічно чиста культура одноклітинної зеленої водорості *Chlorella vulgaris* Beij., HPDP-119, отримана із колекцій Інституту гідробіології НАН України.

Водорість культивували у стандартних умовах на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горема № 11, за температури 22–25°C та освітлення лампами денного світла (інтенсивність 2500–3000 лк) упродовж 16 годин на добу.

В експериментальних умовах у культуральне середовище додавали водні розчини натрію селеніту (Na_2SeO_3) у розрахунку на кількість Se (IV) – 10,0 мг/дм³; цинку сульфату ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) у розрахунку на кількість Zn (II) – 5,0 мг/дм³ та хрому хлориду ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) у розрахунку на вміст Cr (III) – 5,0 мг/дм³.

Біомасу живих мікрowodоростей *Chlorella vulgaris* вилучали на сьому добу культивування після моменту додавання мікронутрієнтів з метою подальшого аналізу та вивчення морфометричних та біохімічних параметрів клітин за дії останніх. Роль контрольного зразка відіграла популяція клітин, що була інкубувана на стандартному живильному середовищі без присутності селеніту натрію чи сполук металів (у досліджуваних концентраціях). Переважну частину вимірювань проводили у чотирьох повторностях (варіантах): I – контроль – водорості вирощені за стандартних умов культивування; II – водорості вирощені за стандартних умов культивування з додаванням натрію селеніту (Se (IV) 10,0 мг/дм³); III – спільно з натрію селенітом (Se (IV) 10,0 мг/дм³) і цинком сульфатом (Zn (II) 5,0 мг/дм³) та IV – спільно з натрію селенітом (Se (IV) 10,0 мг/дм³) і хромом хлоридом (Cr (III) 5,0 мг/дм³).

Виділення клітинних мембран

Клітинні мембрани виділяли згідно з методикою [4, 13] за допомогою двофазної системи, яку готували, змішуючи розчини 0,25 М сахарози і 30 % поліетиленгліколю (ПЕГ) з 0,2 М фосфату натрію та дистильованою водою. Приготовлену суспензію з гомогенатом клітин хлорели залишали на 24 год при 4°C, після цього осад ресуспензували у верхній фазі та розділяли рівномірно в три полікарбонатні пробірки об'ємом 50 мл. У кожену з них додавали 10 мл нижньої фази, змішували і центрифугували при 3500 об/хв протягом 15 хв в горизонтальному роторі. Збирали мембранний матеріал з поверхні поділу фаз за допомогою шприца.

Фарбування клітинних мембран та їх мікроскопічне дослідження

Фарбування мембран здійснювали згідно з методикою [4], забарвлюючи суспензію, яка їх містила, «Хлор-Цинк-Йод» реактивом (50 г цинк хлориду, 16 г калій йодиду розчиняли в 17 мл води й додавали в надлишку йод), та проводили мікроскопію [3, 13].

Морфометричні та кількісні дослідження змін у мембранах *Ch. vulgaris* проводили, використовуючи систему аналізу для гістологічних препаратів. Зображення на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу ЛОМО Біолам за допомогою відеокамери Vision CCD Camera і програми InterVideoWinDVR при збільшенні x900. Морфометричні дослідження

проведені за допомогою програм UTHSCSA Image Tool та Microsort Exel на персональному комп'ютері.

Дослідження загальної АТФ-азної активності (КФ 3.6.1.3)

Дослідження здійснювали згідно з методикою [1, 12]. Як середовище для інкубації використовували суміш у складі 0,2 мл ензимної суспензії, 40 мМ трис-НСl, 5 мМ MgCl₂, 50 мМ КСl, 0,1 мМ СаСl₂, 5 мМ АТФ, 100 мМ NaCl. Час її інкубації становив 40 хв. Для зупинення реакції додавали 10 % трихлороцтову кислоту і центрифугували при 4000 об/хв протягом 10 хв. До центрифугату для визначення вмісту неорганічного фосфату додавали 1 М ацетатний буфер, 2 % молібдат амонію і 2 % розчин аскорбінової кислоти, витримували 20 хв. і фотометрували за довжини хвилі 600 нм. Активність АТФ-аз розраховували за кількістю вивільненого неорганічного фосфору на мг протеїну/год за калібрувальною прямою.

Аналіз отриманих біологічних показників здійснювали з допомогою комп'ютерних програм Statistica v 12.0 та Exel для Windows-2016.

Результати досліджень та їх обговорення

Мікроскопічні морфометричні дослідження показали, що за дії натрію селеніту окремо товщина мембрани збільшилася в 1,5 раза порівняно з контрольними вимірами, за спільної дії селеніту з Цинком розміри збільшилися в 1,6 раза, а за спільної дії селеніту з Хромом – у 2,2 раза щодо контролю (рис. 1, табл. 1).

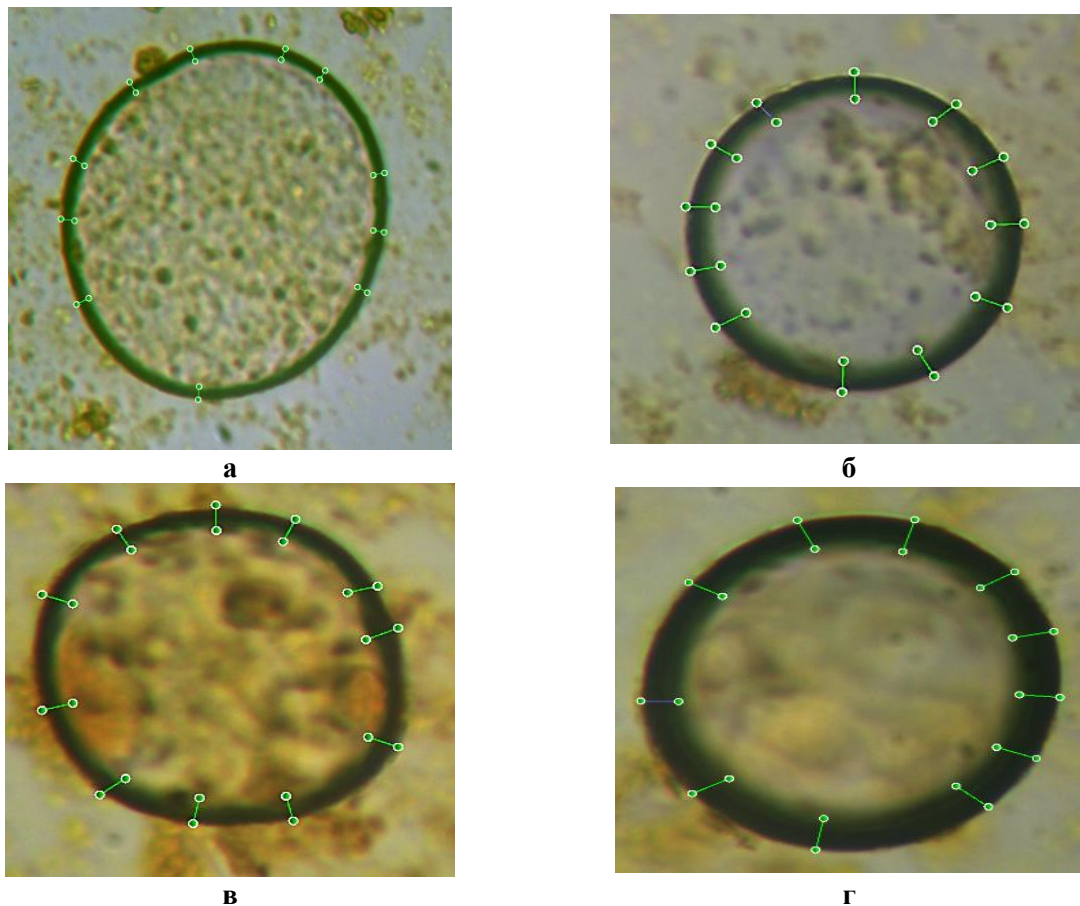


Рис. 1. Мікрофотографії клітинних мембран *Ch. vulgaris*: а – контроль, б – за додаткового внесення Se (IV) 10,0 мг/дм³; в – за додаткового внесення Se (IV) 10,0 мг/дм³ та Zn (II) 5,0 мг/дм³; г – за додаткового внесення Se (IV) 10,0 мг/дм³ та Cr (III) 5,0 мг/дм³.

Паралельно з описаними явищами було зафіксовано виражене зростання гетерогенності та зернистості внутрішнього вмісту цитоплазми клітин (рис. 1). Якщо у контрольних зразках спостерігали переважно дрібнодисперсну структуру компонентів, то в експериментальних

групах відмічали поступове збільшення розмірів внутрішньоклітинних часток та компактне формування їхніх конгломератів. Ступінь агрегації цих включень та їхня оптична щільність закономірно зростали, демонструючи чітку тенденцію до укрупнення залежно від складу середовища. Цей процес посилювався у наступній послідовності: контрольна група < Se (IV) < Se (IV) + Zn (II) < Se (IV) + Cr (III). Таке структурування цитозолу може свідчити про активну перебудову метаболічного апарату клітини та формування специфічних комплексів у відповідь на комбіновану дію зазначених мікроелементів, що призводить до видимих морфологічних трансформацій органел та включень.

Таблиця 1

Товщина клітинних мембран *Ch. vulgaris* за дії натрію селеніту (Se (IV) 10,0 мг/дм³) окремо та спільно з Zn (II) і Cr (III) – по 5,0 мг/дм³, мкм, M±m, n=5

	контроль	Se (IV)	Se (IV) + Zn (II)	Se (IV) + Cr (III)
розміри мембран, мкм	0,196±0,005	0,290±0,008*	0,315±0,006*	0,429±0,012**

Примітка.* – p<0,05, ** – p<0,01 різниця вірогідна, порівнюючи з контролем.

Варто зазначити, що схожі закономірності були зафіксовані стосовно структурних перебудов та інтенсивної мультиплікації мембранних комплексів у представників водної флори (клітини *Chlorella* та *Micrococcus*) під час інкубації у середовищах із вмістом важкої радіоактивної води в концентраціях від 6 % до 9 % (H- та D-варіанти). За таких умов експерименту клітини хлорели характеризувалися значно більшою товщиною клітинної оболонки, як порівняти з контрольними зразками. Водночас на мікрофотографіях біооб'єктів, що зазнали впливу дейтерію, ідентифіковано ущільнені та електронно-прозорі зони зі компактною упаковкою мембран, які морфологічно нагадували мезосоми [19, 20]. Окремі мембранні фрагменти при цьому демонстрували відмінності від контролю за складом жирних кислот, похідних від D-ліпідів.

Крім того, було встановлено, що у певних видів, зокрема *Arthroderma vanbreuseghemii* та *Arthroderma simii*, за дії стресогенних чинників у процесі аскоспорогенезу спостерігалось потовщення та множинна фрагментація клітинних мембран, що візуально набували форми концентричних кіл [17, 29, 30]. Процес утворення «подвійної концентричної мембрани» також раніше виявляли і в *Ch. vulgaris* за дії Mn²⁺ (0,1; 0,2 та 0,5 мг/дм³), Zn²⁺ (5 мг/дм³), Cu²⁺ (0,001; 0,002 та 0,005 мг/дм³), Pb²⁺ (0,1 мг/дм³ і 0,5 мг/дм³), що висвітлено у роботах [4, 13, 19].

Авторами [27] за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії показано, що в одноклітинній зеленій водорості *Dictyosphaerium chlorelloides* за дії Cr (III) у концентрації 112 мкМ (≈ 5,0 мг/дм³) мали місце ультраструктурні зміни – посилення вакуолізації та потовщення клітинної стінки, які більше проявлялися у дикого штаму, ніж у Cr (III)-толерантного штаму. Водночас, адаптовані до Хрому водорості накопичували та розподіляли метал переважно у клітинній стінці (біоадсорбція) у вигляді електронно-щільних везикул, а також деяка кількість цих везикул була знайдена у складі цитоплазми, вакуолях та хлоропласті (біоаккумуляція) [27].

Існує думка, що під час формування вторинної мембрани здійснюється глибока молекулярна реорганізація у клітині, яка зумовлює кількісні та якісні трансформації її компонентів (зокрема, зміна співвідношення між протеїнами і ліпідами, а також перерозподіл між окремими ліпідними класами та жирними кислотами). Цей процес додатково корелює з варіаціями її ензиматичної активності (наприклад, АТФ-ази чи лужної фосфатази) показників проникності та інтенсивності іонних потоків. У результаті таких перетворень відбуваються фундаментальні зсуви у метаболічних циклах та загальному функціонуванні клітинної системи [13, 19, 20, 24].

Зазначимо, що у водоростей *Synechocystis* і *Synechococcus sp.* за дії абіотичних чинників виявлені зміни фізичних характеристик плазматичних мембран, а саме плинність і жорсткість, які проявлялися за експресії генів *desA*, *desB*, *desC* і *desD* [16, 22]. Вказані гени кодували ензими десатураз жирних кислот, які забезпечують перетворення насичених жирних кислот у ненасичені з чотирма подвійними зв'язками, тим самим сприяли включенню у мембранні

ліпіди ненасичених жирних кислот і відновленню функціональної активності мембран за зниження температури та гіперосмотичному стресі. Регулятором експресії генів, що кодують десатурази, є трансмембранний сенсорний комплекс гістидинкінази *Hik33*, у якої зовнішні подразники викликають міжмолекулярну взаємодію та міжмолекулярну димеризацію протеїнів [5]. Інші автори [25] виявили можливість рецепторного комплексу *Hik33* контролювати різні групи генів, які дозволяють у *Synechocystis* у такий спосіб швидше реагувати на різні стреси – окисний, холодний, високотемпературний чи осмотичний, а саме – швидко та ефективно змінювати склад мембран і їх функції відповідно до вимог середовища зростання.

Очевидно, у клітинах водоростей еволюційно сформовані та ефективно працюють генетично детерміновані механізми адаптації до нових умов існування за рахунок потовщення і мультиплікативної фрагментації клітинних мембран, які зумовлюють якісні і кількісні зміни її ліпідного складу [16, 23, 26]. Припускають, що подальші детальні вивчення цих процесів, дозволять використовувати мутовані за цими генами мікроорганізми з підвищеною синтетичною активністю жирних кислот та ліпідів для практичних цілей.

Таким чином, вивчення дії мікроелементів Селену, Цинку та Хрому в обраних дозах і концентраціях дозволило констатувати факт зростання лінійних параметрів мембранних структур у клітинах *Ch. vulgaris* у 1,5–2,2 рази. Отримані дані підтверджують виявлену раніше тенденцію до утворення систем концентрично розташованих мембран у представників водної флори як адаптивну відповідь на трансформацію фізико-хімічних характеристик середовища їхнього існування.

Відомо, що іонотранспортні системи біологічних мембран безпосередньо пов'язані з гомеостазом клітин та є вирішальними у формуванні адаптивних процесів у зміненому середовищі. Показником функціональної цілісності та ефективності клітинних мембран є активність АТФ-аз – інтегральних мембранних протеїнів, які забезпечують транспортні процеси та підтримують гомеостаз клітин як окремої системи, здійснюючи безпосередній і прямий зв'язок клітин з середовищем існування [6, 8, 12, 32, 33].

Так, Uji T. з авторами ідентифікували ген, який кодує мембранну Na^+ -АФТ-азу РукРА2 з морської червоної водорості *Porphyra yezoensis*. Амінокислотна послідовність РукРА2 мала 65 % ідентичність з вже раніше виявленим у *P. yezoensis* РукРА1. Подібно до РукРА1, РукРА2 містить консервативні послідовності для таких функцій, як фосфорилування, зв'язування АТФ та катіонів. Аналіз полімеразної ланцюгової реакції показав регуляцію транскрипції РукРА1 та РукРА2 за дії лужного та холодного температурного стресу, що підтверджує важливість мембранних ензимів в адаптації і формуванні толерантності до чинників середовища існування [31].

Зазначимо, що описані вище морфологічні трансформації в мембранах здатні викликати міжфазні ліпід-протеїнові перебудови, а відтак функціональні зміни мембранних ензимів, які забезпечують інтенсивність метаболізму клітини та його контроль [21, 28]. Тому нами проведено дослідження активності мембранних АТФ-аз у *Ch. vulgaris* за дії натрію селеніту, цинку сульфату та хрому хлориду у визначених концентраціях (рис. 2).

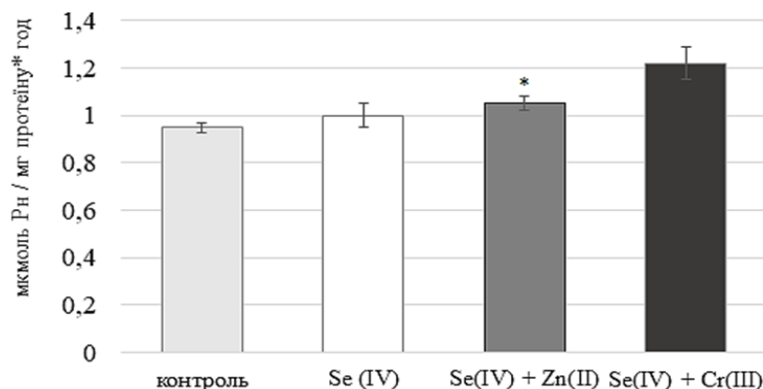


Рис. 2. Загальна АТФ-азна активність у *Chlorella vulgaris* за дії натрію селеніту окремо та спільно з іонами Цинку і Хрому, 7 діб, мкмоль Рн/мг протеїну*год, $M \pm m$, $n=5$; * – $p < 0,05$ різниця вірогідна, порівнюючи з контролем.

Так, у разі впливу селеніту натрію (Se (IV) 10,0 мг/дм³) окремо рівень ензимної активності зріс лише на 5,2 % відносно показників контрольної групи. Разом з тим, комбінована дія селеніту з іонами Цинку (Se (IV) 10,0 мг/дм³ + Zn (II) 5,0 мг/дм³) обумовила статистично значуще підвищення сумарної АТФ-азної активності на 10,5 %. Найбільш виражений ефект виявлено при поєднанні з іонами Хрому (Se (IV) 10,0 мг/дм³ + Cr (III) 5,0 мг/дм³), де збільшення активності склало 28,4 %, як порівняти з параметрами контролю.

Раніше, нами виявлена чутливість мембранних АТФ-азу у зелених одноклітинних водоростей до дії сполук металів [3, 4]. Показано, що початкове пригнічення (протягом 1–5 діб) цього ензиму іонами Цинку і Плюмбуму надалі змінювалося його активацією – на 10 добу на 28,9 % за дії Zn (II) 2,0 мг/дм³ та на 15,1 % за дії Zn (II) 5,0 мг/дм³, на 15 добу на 24,5 % за дії Zn (II) 2,0 мг/дм³ та на 13,2 % за дії Zn (II) 5,0 мг/дм³ щодо контролю, а за дії Pb (II) 0,15 мг/дм³ активність ензиму на 5 і 10 доби відповідно збільшувалася на 13,4 % та 31,7 %, порівнюючи з контрольними значеннями. Окрім цього, було констатовано, що за дії Цинку та інших хімічних сполук у *Ch. vulgaris* практично не змінювалася проникність мембран [19], що свідчило про збереження їхньої структурної цілісності. Також у цих дослідженнях було зафіксовано стабільну концентрацію внутрішньоклітинного Кальцію та Магнію, які відіграють визначальну роль у забезпеченні функціональної активності мембранних АТФ-аз, і, як наслідок, у підтримці стабільності процесів клітинних мембран [24, 32].

Слід зазначити, що механізм впливу Цинку на мембрани подібний до Кальцієвого – іони Zn²⁺ потрапляють у клітини тим самим шляхом, що і Ca²⁺ [9, 15], тому у цьому випадку, можливо, має місце додаткове активування АТФ-аз.

Щодо літературних даних, то переважна кількість досліджень підтверджує опосередкований вплив Селену в біологічно прийнятних концентраціях на активність мембранних АТФ-аз. Так, з'ясовано позитивний вплив селенових добавок на активність Na⁺-K⁺ - АТФ-ази у нейронах мозку щурів, що позитивно корелювало зі зменшенням продуктів пероксидації ліпідів у цих клітинах [10]. Припускають, що Селен забезпечував зниження утворення вільних радикалів, які б могли порушити загальний окисно-відновний потенціал клітин. Також, за дії Se, у дослідженнях [11] показано достовірне збільшення активності не тільки каталази і супероксиддисмутази, а й ензимів Na⁺-K⁺-АТФ-ази, Ca²⁺-АТФ-ази і Ca²⁺-Mg²⁺-АТФ-ази та засвідчено високі значення кореляції між показниками антиоксидантної системи та активністю мембранних АТФ-аз.

Таким чином, вплив хімічних чинників середовища на мембранний апарат водоростей має багатоаспектний характер, охоплюючи трансформації структури, компонентного складу та фізико-хімічних властивостей. Усі ці зміни спрямовані на активацію захисних механізмів у відповідь на дію екзогенних агентів і сприяють стабілізації життєво важливих функцій, зокрема транспортних систем. Попри високу чутливість до коливань зовнішніх умов, мембранні АТФ-ази демонструють значну лабільність та динамічність. Це дозволяє реалізовувати внутрішньомолекулярні стратегії адаптації через модифікацію функціонування ензимного апарату – корекцію їхніх кінетичних параметрів і біохімічної активності, а також через експресію нових ізоформ [14, 20, 32].

З огляду на це, можна стверджувати, що на рівні мембранного транспорту водорості володіють багатокомпонентними і складними системами контролю, які є невід'ємною частиною загальних еволюційних адаптацій, і забезпечують формування нових функціональних якостей у специфічних екологічних нішах. Отримані нами результати підтверджують, що мікроелементи Селен, Цинк та Хром у досліджених концентраціях і поєднаннях не виявляють інгібуючого впливу на АТФ-азні комплекси *Ch. vulgaris*. Як наслідок, транспортні потоки в клітині залишаються стабільними, що гарантує підтримання належного метаболічного статусу та життєздатності організмів.

Висновки

За результатами морфометричного мікроскопічного аналізу було зафіксовано потовщення мембранних структур *Ch. vulgaris* та трансформацію стану цитоплазматичного матриксу за впливу досліджуваних мікроелементів. Зокрема, за присутності Se (IV) лінійні розміри мембран зросли в 1,5 раза, порівнюючи з контролем. Комбінована дія Se (IV) та Zn (II) призвела до

потовщення в 1,6 раза, тоді як поєднання Se (IV) із Cr (III) зумовило найбільш суттєвий приріст – у 2,2 раза, порівнюючи контрольними показниками.

Паралельно спостерігалось посилення гетерогенності (зернистості) цитоплазми, інтенсивність якої зростала у такій послідовності: контроль < Se (IV) < Se (IV) + Zn (II) < Se (IV) + Cr (III). Відповідно, виявлені структурні зміни мембран у присутності селеніту натрію, сульфату цинку та хлориду хрому в обраних концентраціях корелювали зі зміною активності мембранних АТФ-аз у діапазоні від 5,2 % до 28,4 %. Такі показники свідчать про відсутність пригнічувального впливу мікроелементів на внутрішньоклітинні транспортні механізми, що забезпечують стабільну життєдіяльність організмів у цілому.

1. Бойко Н. М., Целевич М. В., Санагурський Д. І. Активність Na^+/K^+ -АТФ-ази мембран зародків в'юна за дії катіонів важких металів. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2004. Т. 76, № 2. С. 59–63.
2. Грубінко В. В. Адаптивні стратегії токсикорезистентності до металів у гідробіонтів. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 2017. № 2 (69). С. 129–149.
3. Костюк К. В., Боднар О. І., Грубінко В. В. Вплив іонів Zn^{2+} та Pb^{2+} на активність АТФ-аз у одноклітинній водорості *Desmodesmus communis* (=Scenedesmus quadricauda Brev.). *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 2008. № 2 (36). С. 143–148.
4. Andrusyshyn T. V., Kostiuk K. V., Grubinko V. V. Structural modifications in cell membranes of *Lemna minor* from the Zbruch River (Ukraine) as indicator of pollution by heavy metals. *Hydrobiological Journal*. 2015. Vol. 51, no. 6. P. 48–52. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v51.i6.50>.
5. Aravind L., Anantharaman V., Iyer L. M. Evolutionary connections between bacterial and eukaryotic signaling systems: a genomic perspective. *Current Opinion in Microbiology*. 2003. Vol. 6, no. 5. P. 490–507. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.09.003>.
6. Arguello J. M., Eren E., Gonzalez-Guerrero M. The structure and function of heavy metal transport PIB-ATP-ases. *Biometals*. 2007. Vol. 20, no. 3–4. P. 233–248 <https://doi.org/10.1007/s10534-006-9055-6>
7. Baerwald R. J., Delcarpio J. B. Double membrane-bounded intestinal microvilli in *Oncopeltus fasciatus*. *Cell and Tissue Research*. 1983. Vol. 232, no. 3. P. 593–600. <https://doi.org/10.1007/BF00216431>.
8. Barrero-Gil J., Garcíadeblas B., Benito B. Sodium, potassium-ATP-ases in algae and oomycetes. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. 2005. Vol. 37, no. 4. P. 269–278. <https://doi.org/10.1007/s10863-005-6637-x>.
9. Barron M. G., Albeke S. Calcium control of zinc uptake in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*. 2000. Vol. 50, no. 3. P. 257–264. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00099-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00099-5).
10. Bekpınar S., Gurdol F., Altug T. Selenium-induced activation of brain Na^+/K^+ -ATPase in rats. *In Vivo*. 1995. Vol. 9, no. 2. P. 145–148.
11. Cao C., Zhao X., Fan R. et al. Dietary selenium increases the antioxidant levels and ATP-ase activity in the arteries and veins of poultry. *Biological Trace Element Research*. 2016. Vol. 172, no. 1. P. 222–227. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0584-0>.
12. Dang Z., Lock R. A. C., Flik G. Na^+/K^+ -ATP-ase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper. *Journal of Experimental Biology*. 2000. Vol. 203, no. 2. P. 379–387. <https://doi.org/10.1242/jeb.203.2.379>.
13. Grubinko V. V., Lutsiv A. I., Kostyuk K. V. Structural reconstruction of a membrane at absorption of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , and Pb^{2+} with green algae *Chlorella vulgaris* Beij. *Heavy Metal Pollutants and Other Pollutants In the Environment. Biological Aspects* / Eds.: C. F. Nourani et al. Waretown (USA) : Apple Academic Press Inc., 2017. Ch. 14. P. 273–291.
14. Hanikenne M., Baurain D. Origin and evolution of metal P-type ATP-ases in Plantae (Archaeplastida). *Frontiers in Plant Science*. 2014. Vol. 4. P. 544–559. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00544>.
15. Hogstrand C., Webb N., Wood C. M. Covariation in regulation of affinity for branchial zinc and calcium uptake in freshwater rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*. 1998. Vol. 201, no. 11. P. 1809–1815. <https://doi.org/10.1242/jeb.201.11.1809>.
16. Inaba M., Suzuki I., Szalontai B. et al. Gene-engineered rigidification of membrane lipids enhances the cold inducibility of gene expression in *Synechocystis*. *Journal of Biological Chemistry*. 2003. Vol. 278, no. 14. P. 12191–12198. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212204200>.
17. Ito H., Hanyaku H., Harada T., Tanaka S. Fine structure in ascosporeogenesis of freeze-substituted *Arthroderma simii*. *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi* / eds.: R. K. S. Kushwaha, J. Guarro. Bilbao (Spain) : Revista Iberoamericana de Micología, 2000. P. 13–16.

18. Kang X., Ge Sh., Guo M. et al. A transmission electron microscopy investigation: the membrane complex in spermatogenesis of *Fenneropenaeus chinensis*. *Cytotechnology*. 2008. Vol. 56, no. 2. P. 113–122. <https://doi.org/10.1007/s10616-008-9132-5>.
19. Kostiuk K. V., Grubinko V. V. Ion processes in the cell membranes of the aquatic plants under the toxic substances impact. *Hydrobiological Journal*. 2014. Vol. 50, no. 3. P. 80–89. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v50.i3.90>.
20. Kostiuk K. V., Grubinko V. V. Role of membrane ATP-ases in adaptation of aquatic organisms to environmental factors (a Review). *Hydrobiological Journal*. 2010. Vol. 46, no. 6. P. 45–56. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v46.i6.50>.
21. Li Y., Liu S., Ji Z. et al. Distinct responses of *Chlorella vulgaris* upon combined exposure to microplastics and bivalent zinc. *Journal of Hazardous Materials*. 2023. Vol. 442. Art. 130137. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130137>.
22. Los D. A., Murata N. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2004. Vol. 1666, no. 1–2. P. 142–157. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.08.002>.
23. Lu M. M., Gao F., Li C., Yang H. L. Response of microalgae *Chlorella vulgaris* to Cr stress and continuous Cr removal in a membrane photobioreactor. *Chemosphere*. 2021. Vol. 262. Art. 128422. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128422>.
24. Metzler D. E. *Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells*. 2nd ed. New York ; London : Academic Press, 2003. 1973 p. <https://doi.org/10.1021/ed081p646>.
25. Mikami K., Suzuki I., Murata N. Sensors of abiotic stress in *Synechocystis*. *Plant Responses to Abiotic Stress* / eds.: H. Hirt, K. Shinozaki. Berlin : Springer-Verlag, 2003. Vol. 4. P. 103–119. (Topics in Current Genetics). https://doi.org/10.1007/978-3-540-39402-0_5.
26. Nowicka B. Heavy metal-induced stress in eukaryotic algae-mechanisms of heavy metal toxicity and tolerance with particular emphasis on oxidative stress in exposed cells and the role of antioxidant response. *Environmental Science and Pollution Research*. 2022. Vol. 29, no. 12. P. 16860–16911. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18419-w>.
27. Pereira M., Bartolome C. M., Sanchez-Fortun S. Photosynthetic activity and protein overexpression found in Cr(III)-tolerant cells of the green algae *Dictyosphaerium chlorelloides*. *Chemosphere*. 2014. Vol. 108. P. 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.052>.
28. Rodriguez-Navarro A., Benito B. Sodium or potassium efflux ATPase: A fungal, bryophyte, and protozoal ATP-ase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2010. Vol. 1798, no. 10. P. 1841–1853. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.07.009>.
29. Tanaka S., Mochizuki T., Saito Y. et al. Wall ultrastructure of *Arthroderma vanbreuseghemii* ascospores. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. 1989. Vol. 27, no. 3. P. 187–191.
30. Tiwari S. C., Polito V. S., Webster B. D. In dry pear (*Pyrus communis* L.) pollen, membranes assume a tightly packed multilamellate aspect that disappears rapidly upon hydration. *Protoplasma*. 1990. Vol. 153, no. 3. P. 157–168.
31. Uji T., Hirata R., Mikami K. et al. Molecular characterization and expression analysis of sodium pump genes in the marine red alga *Porphyra yezoensis*. *Molecular Biology Reports*. 2012. Vol. 39, no. 8. P. 7973–7980. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1643-7>.
32. Xiao X., Li W., Jin M. et al. Responses and tolerance mechanisms of microalgae to heavy metal stress: A review. *Marine Environmental Research*. 2023. Vol. 183. Art. 105805. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105805>.
33. Zsiros O., Nagy G., Patai R. et al. Similarities and Differences in the Effects of Toxic Concentrations of Cadmium and Chromium on the Structure and Functions of Thylakoid Membranes in *Chlorella variabilis*. *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. Art. 1006. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01006>.

References

1. Boyko N. M., Tselevych M. V., Sanahurskyi D. I. Aktyvnist Na⁺/K⁺-ATP-azy membran zarodkiv viuna za dii kationiv vazhkykh metaliv. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2004. T. 76, No 2. S. 59–63. [in Ukrainian]
2. Hrubinko V. V. Adaptivni stratehii toksykorezystentnosti do metaliv u hidrobiontiv. *Naukovi zapysky Ternopilskoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu imeni Volodymyra Hnatiuka. Serii: Biolohiia*. 2017. No 2 (69). S. 129–149. [in Ukrainian]
3. Kostiuk K. V., Bodnar O. I., Hrubinko V. V. Vplyv ioniv Zn²⁺ ta Pb²⁺ na aktyvnist ATF-az u odnoklitynnoi vodorosti *Desmodesmus communis* (=Scenedesmus quadricauda Brev.). *Naukovi zapysky Ternopilskoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu imeni Volodymyra Hnatiuka. Serii: Biolohiia*. 2008. No 2 (36). S. 143–148. [in Ukrainian]

4. Andrusyshyn T. V., Kostiuk K. V., Grubinko V. V. Structural modifications in cell membranes of *Lemna minor* from the Zbruch River (Ukraine) as indicator of pollution by heavy metals. *Hydrobiological Journal*. 2015. Vol. 51, no. 6. P. 48–52. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v51.i6.50>.
5. Aravind L., Anantharaman V., Iyer L. M. Evolutionary connections between bacterial and eukaryotic signaling systems: a genomic perspective. *Current Opinion in Microbiology*. 2003. Vol. 6, no. 5. P. 490–507. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.09.003>.
6. Arguello J. M., Eren E., Gonzalez-Guerrero M. The structure and function of heavy metal transport PIB-ATP-ases. *Biomaterials*. 2007. Vol. 20, no. 3–4. P. 233–248 <https://doi.org/10.1007/s10534-006-9055-6>
7. Baerwald R. J., Delcarpio J. B. Double membrane-bounded intestinal microvilli in *Oncopeltus fasciatus*. *Cell and Tissue Research*. 1983. Vol. 232, no. 3. P. 593–600. <https://doi.org/10.1007/BF00216431>.
8. Barrero-Gil J., Garcia-deblas B., Benito B. Sodium, potassium-ATP-ases in algae and oomycetes. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. 2005. Vol. 37, no. 4. P. 269–278. <https://doi.org/10.1007/s10863-005-6637-x>.
9. Barron M. G., Albeke S. Calcium control of zinc uptake in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*. 2000. Vol. 50, no. 3. P. 257–264. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00099-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00099-5).
10. Bekpinar S., Gurdol F., Altug T. Selenium-induced activation of brain Na⁺-K⁺-ATPase in rats. *In Vivo*. 1995. Vol. 9, no. 2. P. 145–148.
11. Cao C., Zhao X., Fan R. et al. Dietary selenium increases the antioxidant levels and ATP-ase activity in the arteries and veins of poultry. *Biological Trace Element Research*. 2016. Vol. 172, no. 1. P. 222–227. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0584-0>.
12. Dang Z., Lock R. A. C., Flik G. Na⁺/K⁺-ATP-ase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper. *Journal of Experimental Biology*. 2000. Vol. 203, no. 2. P. 379–387. <https://doi.org/10.1242/jeb.203.2.379>.
13. Grubinko V. V., Lutsiv A. I., Kostyuk K. V. Structural reconstruction of a membrane at absorption of Mn²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, and Pb²⁺ with green algae *Chlorella vulgaris* Beij. *Heavy Metal Pollutants and Other Pollutants In the Environment. Biological Aspects* / Eds.: C. F. Nourani et al. Waretown (USA) : Apple Academic Press Inc., 2017. Ch. 14. P. 273–291.
14. Hanikenne M., Baurain D. Origin and evolution of metal P-type ATP-ases in Plantae (Archaeplastida). *Frontiers in Plant Science*. 2014. Vol. 4. P. 544–559. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00544>.
15. Hogstrand C., Webb N., Wood C. M. Covariation in regulation of affinity for branchial zinc and calcium uptake in freshwater rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*. 1998. Vol. 201, no. 11. P. 1809–1815. <https://doi.org/10.1242/jeb.201.11.1809>.
16. Inaba M., Suzuki I., Szalontai B. et al. Gene-engineered rigidification of membrane lipids enhances the cold inducibility of gene expression in *Synechocystis*. *Journal of Biological Chemistry*. 2003. Vol. 278, no. 14. P. 12191–12198. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212204200>.
17. Ito H., Hanyaku H., Harada T., Tanaka S. Fine structure in ascosporeogenesis of freeze-substituted *Arthroderma simii*. *Biology of Dermatophytes and Other Keratinophilic Fungi* / eds.: R. K. S. Kushwaha, J. Guarro. Bilbao (Spain) : Revista Iberoamericana de Micología, 2000. P. 13–16.
18. Kang X., Ge Sh., Guo M. et al. A transmission electron microscopy investigation: the membrane complex in spermatogenesis of *Fenneropenaeus chinensis*. *Cytotechnology*. 2008. Vol. 56, no. 2. P. 113–122. <https://doi.org/10.1007/s10616-008-9132-5>.
19. Kostiuk K. V., Grubinko V. V. Ion processes in the cell membranes of the aquatic plants under the toxic substances impact. *Hydrobiological Journal*. 2014. Vol. 50, no. 3. P. 80–89. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v50.i3.90>.
20. Kostiuk K. V., Grubinko V. V. Role of membrane ATP-ases in adaptation of aquatic organisms to environmental factors (a Review). *Hydrobiological Journal*. 2010. Vol. 46, no. 6. P. 45–56. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v46.i6.50>.
21. Li Y., Liu S., Ji Z. et al. Distinct responses of *Chlorella vulgaris* upon combined exposure to microplastics and bivalent zinc. *Journal of Hazardous Materials*. 2023. Vol. 442. Art. 130137. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130137>.
22. Los D. A., Murata N. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2004. Vol. 1666, no. 1–2. P. 142–157. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.08.002>.
23. Lu M. M., Gao F., Li C., Yang H. L. Response of microalgae *Chlorella vulgaris* to Cr stress and continuous Cr removal in a membrane photobioreactor. *Chemosphere*. 2021. Vol. 262. Art. 128422. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128422>.
24. Metzler D. E. Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells. 2nd ed. New York ; London : Academic Press, 2003. 1973 p. <https://doi.org/10.1021/ed081p646>.
25. Mikami K., Suzuki I., Murata N. Sensors of abiotic stress in *Synechocystis*. *Plant Responses to Abiotic Stress* / eds.: H. Hirt, K. Shinozaki. Berlin : Springer-Verlag, 2003. Vol. 4. P. 103–119. (Topics in Current Genetics). https://doi.org/10.1007/978-3-540-39402-0_5.

26. Nowicka B. Heavy metal-induced stress in eukaryotic algae-mechanisms of heavy metal toxicity and tolerance with particular emphasis on oxidative stress in exposed cells and the role of antioxidant response. *Environmental Science and Pollution Research*. 2022. Vol. 29, no. 12. P. 16860–16911. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18419-w>.
27. Pereira M., Bartolome C. M., Sanchez-Fortun S. Photosynthetic activity and protein overexpression found in Cr(III)-tolerant cells of the green algae *Dictyosphaerium chlorelloides*. *Chemosphere*. 2014. Vol. 108. P. 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.052>.
28. Rodriguez-Navarro A., Benito B. Sodium or potassium efflux ATPase: A fungal, bryophyte, and protozoal ATP-ase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2010. Vol. 1798, no. 10. P. 1841–1853. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.07.009>.
29. Tanaka S., Mochizuki T., Saito Y. et al. Wall ultrastructure of *Arthroderma vanbreuseghemii* ascospores. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. 1989. Vol. 27, no. 3. P. 187–191.
30. Tiwari S. C., Polito V. S., Webster B. D. In dry pear (*Pyrus communis* L.) pollen, membranes assume a tightly packed multilamellate aspect that disappears rapidly upon hydration. *Protoplasma*. 1990. Vol. 153, no. 3. P. 157–168.
31. Uji T., Hirata R., Mikami K. et al. Molecular characterization and expression analysis of sodium pump genes in the marine red alga *Porphyra yezoensis*. *Molecular Biology Reports*. 2012. Vol. 39, no. 8. P. 7973–7980. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1643-7>.
32. Xiao X., Li W., Jin M. et al. Responses and tolerance mechanisms of microalgae to heavy metal stress: A review. *Marine Environmental Research*. 2023. Vol. 183. Art. 105805. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105805>.
33. Zsiros O., Nagy G., Patai R. et al. Similarities and Differences in the Effects of Toxic Concentrations of Cadmium and Chromium on the Structure and Functions of Thylakoid Membranes in *Chlorella variabilis*. *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. Art. 1006. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01006>.

¹O. I. Bodnar, ²A. V. Dovbush, ¹A. I. Rakochii, ¹R. V. Kolesnytskiy, ¹V. V. Hrubinko

¹Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

²I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL VARIATIONS IN *CHLORELLA VULGARIS* CELLS UNDER ADDITIONAL EXPOSURE TO MICROELEMENTS

This article investigates the structural and functional variations in the cell membranes of the unicellular green alga *Chlorella vulgaris* under the influence of the microelements selenium, zinc, and chromium applied individually and in combinations. Cell membranes are considered a key component of adaptive cellular responses that regulate metabolism and maintain cellular homeostasis under altered environmental conditions. Experimental studies were carried out using an algologically pure culture of *Ch. vulgaris* grown under standard conditions with the addition of sodium selenite alone and in combination with zinc sulfate or chromium chloride. Membrane structural changes were assessed using light microscopy and morphometric analysis, while membrane functionality was evaluated based on total ATPase activity.

The results demonstrated significant membrane thickening and the formation of secondary concentric membrane systems in algal cells exposed to microelements. Membrane thickness increased 1.5-fold under Se (IV) treatment, 1.6-fold under combined Se (IV) and Zn (II) exposure, and 2.2-fold under combined Se (IV) and Cr (III) exposure compared to the control. An increase in cytoplasmic granularity was also observed, indicating profound structural rearrangements within the cells. Functional analysis revealed that these structural modifications were accompanied by changes in membrane ATPase activity, with the highest increase (up to 28.4%) recorded under the combined action of selenium and chromium. Importantly, the applied concentrations of microelements did not disrupt ion transport processes, indicating an adaptive rather than toxic cellular response. The findings confirm the presence of efficient membrane-mediated adaptive mechanisms in *Chlorella vulgaris* and highlight the potential of this alga for use in environmental bioindication and further biotechnological applications.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, cell membranes, microelements, ATPases, adaptation.

Надійшла до редакції: 01.12.2025

Прийнята до друку: 16.12.2025

Опублікована: 30.12.2025