

**ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО БЕЛКА
*CHLORELLA VULGARIS***

И.А. Ковальчук, 4 курс

Научный руководитель – **И.А. Ильючик**, к.б.н., доцент

Полесский государственный университет

Одной из самых выдающихся особенностей хлореллы является значительное содержание белка, достигающее 60%, относительно сухого веса биомассы микроводоросли, зависящего от условий ее роста [1]. Питательная ценность белка хлореллы сопоставима с белками сухого молока или

мяса, так как содержит в себе все незаменимые аминокислоты, поэтому хлорелла давно используется как добавка в пищу для человека, корма для животных, в аквакультуре. Более того, она способна оказывать влияние на очистку окружающей среды, а именно сточных вод от тяжелых металлов [2]. Выполняя роль биосорбента, хлорелла абсорбирует тяжелые металлы на белках клеточных стенок, функциональных группах (например, $-\text{COO}^-$, $-\text{OH}^-$) [3].

Одним из наиболее токсичных тяжелых металлов для растительных организмов является кадмий. Он влияет на обмен нуклеиновых кислот и белка, а механизм его действия заключается в угнетении активности ряда ферментных систем [4]. Пагубность кадмия описывается блокированием и уменьшением тиоловых участков в белках. Как цинк и другие металлы, он может взаимодействовать как с высокоаффинными (фосфорильными, сульфгидрильными), так и с низкоаффинными (карбоксильными) участками на поверхности клеток, в зависимости от его концентрации в растворе [5].

Цель работы – выявить влияние ионов кадмия на динамику накопления внутриклеточного белка культурой *Chlorella vulgaris*.

Исследования выполнены на альгологически чистой культуре *Ch. vulgaris*, штамм С 111 IBCE С-19. Микроводоросль выращивали на среде А5П, в идентичных условиях, ранее описанных нами в источнике [6]. Концентрация ионов Cd^{2+} , дополнительно внесенных в среду культивирования, составила 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} М. В качестве контроля использовали оригинальную среду А5П (солей кадмия не содержит).

На 1, 4, 7, 10, 13, 17, 20-е сутки культивирования производили подсчет клеток хлореллы и отбирали аликвоты по 10 млн. Отмывали клетки от культуральной среды дистиллированной водой дважды, центрифугировали, а затем растирали в ступке на льду до однородной массы. В гомогенатах клеток определяли концентрацию белка колориметрическим методом [7].

Исследования проведены шестикратно. Достоверность различий определяли по t -коэффициенту Стьюдента для уровня значимости $P \leq 0,05$.

В течение 20-и суток культивирования наблюдалось изменение количества внутриклеточного белка в клетках хлореллы как в контроле, так и в вариантах с добавлением соли хлорида кадмия (таблица).

В контроле наблюдался прирост белка в период 1–7-ых суток и 13–17-ых суток. Максимальное его количество проявилось на 7-е сутки, что на 156% больше относительно 1-ых суток. Резкое снижение концентрации белка было в периоды: 7–10-ых суток (-79%), 10–13-х суток (-27%) и 17–20-ых суток (-30%) относительно 7, 10 и 17-х суток соответственно (таблица).

Таблица – Динамика роста культуры *Chlorella vulgaris* при добавлении в питательную среду хлорида кадмия ($n=6$)

Концентрация Cd^{2+} , М	Содержание белка, мкг/млн клеток			
	1-е сутки	4-е сутки	7-е сутки	10-е сутки
Контроль	17,17 ± 2,77	23,56 ± 3,49	44,02 ± 1,01	9,06 ± 0,71
10^{-8}	12,54 ± 1,24	19,24 ± 1,19	7,72 ± 0,52*	2,88 ± 0,89*
10^{-7}	1,22 ± 0,18*	5,35 ± 1,41*	37,43 ± 0,53*	2,81 ± 0,78*
10^{-6}	16,48 ± 0,66	18,03 ± 0,79	11,15 ± 0,80*	10,34 ± 0,44
10^{-5}	17,81 ± 0,87	22,37 ± 0,79	20,36 ± 0,41*	10,96 ± 0,68
Концентрация Cd^{2+} , М	13-е сутки	17-е сутки	20-е сутки	
Контроль	6,62 ± 0,82	13,29 ± 1,45	9,28 ± 0,79	
10^{-8}	14,67 ± 1,16*	6,74 ± 1,19*	10,34 ± 0,83	
10^{-7}	15,64 ± 0,82*	28,99 ± 5,41*	26,76 ± 1,58*	
10^{-6}	19,18 ± 1,18*	8,58 ± 0,54*	20,22 ± 0,51*	
10^{-5}	14,59 ± 0,59*	15,98 ± 0,79	24,39 ± 0,84*	

Примечание: * – изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$

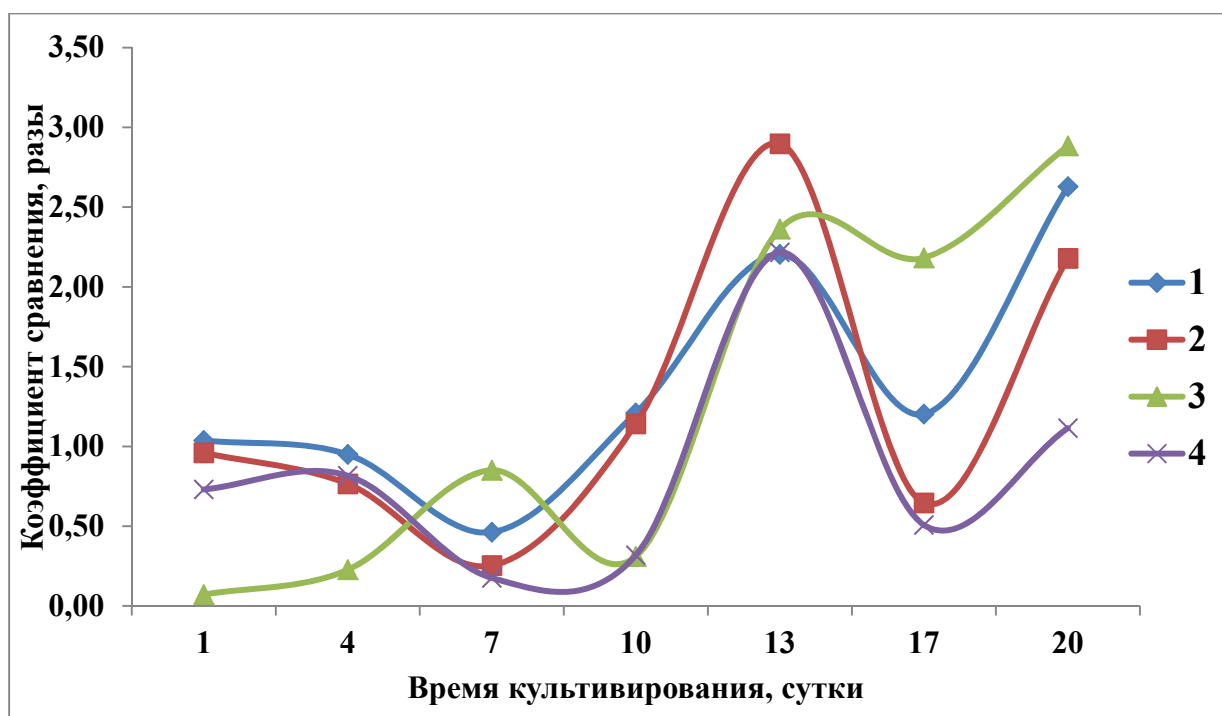


Рисунок – Изменения накопления белка культурой *Chlorella vulgaris* относительно контроля при добавлении в питательную среду хлорида кадмия (М): 1 – 10^{-5} , 2 – 10^{-6} , 3 – 10^{-7} , 4 – 10^{-8}

При использовании дополнительном внесении соли кадмия картина существенно менялась. Максимальные количества белка в клетках *Ch. vulgaris* отмечены при концентрациях Cd^{2+} 10^{-8} М – на 13-е сутки; 10^{-7} М – на 17-е сутки; 10^{-6} М – на 20-е сутки, что в 2,2 раза больше контроля, чем в данных вариантах; 10^{-5} М – на 20-е сутки, что в 1,4 раз выше контроля (таблица, рисунок).

Следует отметить, что на 17-е сутки концентрация белка в клетках хлореллы, культивируемой на средах с хлоридом кадмия 10^{-8} , 10^{-6} М по сравнению с контролем уменьшилась на 49,3 и 35,4% соответственно.

В вариантах с концентрацией эффектора 10^{-7} М наблюдалось увеличение количества белка на 85,4% по сравнению с 13-ми сутками (таблица).

В среде с концентрацией CdCl_2 10^{-6} и 10^{-5} М на 20-е сутки наблюдался резкий прирост белка, что в 2,4 и 1,5 раза больше относительно 17-х суток и в 1,3 и 1,4 раза больше соответственно относительно контроля (таблица, рисунок).

Выше изложенные результаты показывают, что дополнительно внесенные ионы кадмия в питательную среду концентраций 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} М оказывают различное влияние на накопление белка в клетках хлореллы. Невысокие концентрации кадмия (особенно при 10^{-7} и 10^{-6} М) стимулируют накопление белка в клетках культуры и как было ранее выявлено [6] стимулируют ее рост. Хлорид кадмия не оказывает пагубного действия на накопление внутриклеточного белка культурой *Ch. vulgaris*.

Список использованных источников

1. Komal Rani, A. Comprehensive review on chlorella – its composition, health benefits, market and regulatory scenario / A. Komal Rani, Dr. Nidhi Sandal, P.K. Sahoo // The Pharma Innovation Journal. – 2018. – № 7. – P. 584–589.
2. Cheng, F.C. Effects of chlorella on activities of protein tyrosine phosphatases, matrix metalloproteinases, caspases, cytokine release, B and T cell proliferations, and phorbol ester receptor binding / Cheng F.C. [et al.] // J Med Food. – 2004. – № 7. – P. 146–152.
3. Salama, E.S. Algae as a green Technology for Heavy Metals Removal from Various Wastewater / E.S. Salama [et al.] // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2019. – Vol. 35. – P. 1–19.

4. Antonio León-Vaz Impact of heavy metals in the microalga *Chlorella sorokiniana* and assessment of its potential use in cadmium bioremediation / Antonio León-Vaz, Rosa León, Inmaculada Giráldez, José María Vega, Javier Vigara // *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands). – 2021. – Vol. 239.

5. Оразбердиева, М. Культивирование хлореллы как способ развития альтернативной энергетики / М. Оразбердиева [и др.] // Исследования и разработки в области машиностроения, энергетики и управления: материалы XXI Междунар. науч.-техн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Гомель, 22–23 апр. 2021 г. В 2 ч. Ч. 1 / М-во образования Респ. Беларусь, Гомел. гос. техн. ун-т им. П. О. Сухого; под общ. ред. А. А. Бойко. – Гомель: ГГТУ им. П. О. Сухого, 2021. – С. 182–185.

6. Ковальчук, И.А. Особенности накопления биомассы хлореллой в присутствии хлорида кадмия в среде культивирования / И.А. Ковальчук // Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси : материалы XVIII международной молодежной научно-практической конференции, Пинск, 19 апреля 2024 г. : в 2 ч. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.]; редкол.: В.И. Дунай [и др.]. – Пинск: ПолесГУ, 2024. – Ч. 2. – С. 216-218.

7. Ильючик, И. А. Методические рекомендации по изучению биохимических свойств одноклеточных зеленых водорослей (на примере *Chlorella vulgaris*) / И. А. Ильючик, В. Н. Никандров. – Пинск: ПолесГУ, 2020. – 29 с.