

**НАКОПЛЕНИЕ БЕЛКА *CHLORELLA VULGARIS* ПРИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОМ  
ВНЕСЕНИИ АЦЕТАТА СВИНЦА В СРЕДУ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

Д.В. Кологрив, 4 курс

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

**Полесский государственный университет**

Хлорелла (*Chlorella*) – это род одноклеточных неподвижных зеленых водорослей, относящихся к типу зеленых водорослей (*Chlorophyta*), порядку хлорококковых (*Chlorococcales*) и семейству хлорелловых (*Chlorellaceae*). *Chlorella vulgaris* широко распространена в природе. Она нетребовательна к условиям обитания и размножается с высокой интенсивностью, что дает возможность получить значительное количество биомассы в короткий срок. По качеству продуцируемого белка, представленного всеми необходимыми аминокислотами, в том числе и незаменимыми для человека, и витаминов она превосходит все известные кормовые и пищевые продукты [1, с. 205].

Использование микроводорослей представляется наиболее перспективным благодаря своим особенностям. Водоросли являются естественными обитателями водоемов; способны к выживанию в среде с повышенным содержанием тяжелых металлов и к снижению концентрации последних; неприхотливы в культивировании и обладают высокой продуктивностью. Поэтому наиболее практичным и эффективным способом очистки вод представляется биологическая очистка с помощью микроводорослей, в том числе и хлореллы.

Свинец – один из наиболее распространенных тяжелых металлов признанный приоритетным загрязнителем окружающей среды всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ). На территории Европейского союза (ЕС) площадь экосистем с превышением критической нагрузки свинца составляет более 12%. Металл поступает в окружающую среду в основном с выбросами предприятий черной и цветной металлургии, энергетики, цементной промышленности, мобильных источников.

В медицине его определяют, как ядовитое вещество, с высокой способностью проникать в организм человека и аккумулироваться в нем, вызывая ряд патологических состояний. Свинец так же оказывает существенное влияние на все важные процессы жизнедеятельности растений: угнетает фотосинтез, дыхание, рост, водный обмен, связываясь непосредственно с ДНК, препятствует ее нормальной работе; при высокой концентрации металла в тканях растений падает содержание фосфора, калия и кальция. Кроме того, тормозится поступление некоторых микроэлементов ( $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ), по-видимому, вследствие конкуренции их ионов с ионами свинца за трансмембранные переносчики [2, с. 468; 3, с. 149].

В последнее время с целью очистки сточных вод от тяжелых металлов стали использовать микроводоросли *Scenedesmus acutus*, *Chlorella vulgaris var* и др., т.к. с их помощью можно добиться большей производительности при меньших затратах. Отмечено, что *Ch. vulgaris* обладает высокой

адсорбционной способностью – 127 мг Pb/г сухой массы при минимальной концентрации 130 мг/л [4, с. 253]. Абсорбция тяжелых металлов с помощью хлореллы обусловлена наличием в качестве компонентов клеточной стенки полисахаридных компонентов, белков и липидов, которые содержат amino, гидроксильные, карбоксильные и сульфатные функциональные группы, действующие как места связывания тяжелых металлов [3, с. 149].

Ранее нами было выявлено, что внесение в среду культивирования  $Pb(CH_3COO)_2$  концентраций  $10^{-5}$ – $10^{-8}$  М положительно повлияло на динамику роста *Ch. vulgaris* [5, с. 222].

**Цель работы** – выявить влияние ионов свинца на динамику накопления внутриклеточного водорастворимого белка хлореллой.

Исследования проведены на культуре *Ch. vulgaris*, штамм IBCE C-19 из коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Культивирование вели на среде А5 при условиях, ранее описанных нами [5, с. 221].

В питательную среду экспериментальных вариантов вносили ацетат свинца в концентрациях  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  М. В питательную среду контрольного варианта соль свинца не добавляли.

На 1, 4, 7, 10, 13, 17, 20-е сутки культивирования, определяли концентрацию клеток *Ch. vulgaris* и производили забор аликвот по 10 млн клеток. Количество белка в клетках хлореллы определяли спектрофотометрически по методу Bradford [7, с. 20].

Все исследования проведены девятикратно. Результаты обработаны статистически с вычислением t-критерия Стьюдента.

На протяжении всего периода культивирования культура *Ch. vulgaris* находилась в активном состоянии. Во всех экспериментальных вариантах происходило накопление внутриклеточного белка (таблица).

В контроле (среда А5) внутриклеточный белок накапливался неравномерно: наблюдалось линейное его увеличение до 7-х суток на 142,1% по сравнению с 1-ми сутками; резкое уменьшение до 13-х суток на 60,7% по сравнению с 7-ми сутками; затем снова накопление до 17-х суток на 53,8% по сравнению с 13-ми сутками и снова спад на 20-е сутки на 45% по сравнению с 17-ми сутками (таблица).

В вариантах с ионами  $Pb^{2+}$   $10^{-6}$  и  $10^{-7}$  М происходило практически линейное накопление внутриклеточного белка с резким спадом на 20-е сутки. В этих вариантах к 17-м суткам концентрация белка увеличилась в 1,8–10,0 раза в сравнении с 1-ми сутками, а на 20-е сутки – уменьшилась в 1,9–4,0 раза в сравнении с 17-ми сутками.

Таблица – Концентрация белка в клетках хлореллы, выращенных на среде с добавлением ацетата свинца n = 9

Концентрация ионов $Pb^{2+}$ , М	Концентрация белка, мкг/млн клеток			
	1-е сутки	4-е сутки	7-е сутки	10-е сутки
Контроль	94,09 ± 5,24	179,43 ± 1,39	228,5 ± 0,14	133,96 ± 0,17
$10^{-6}$	11,87 ± 1,54*	27,22 ± 1,12*	71,30 ± 0,14*	83,07 ± 0,19*
$10^{-7}$	75,56 ± 0,85*	81,63 ± 0,80*	109,45 ± 0,19*	105,89 ± 0,20*
$10^{-8}$	87,04 ± 0,59	87,67 ± 0,57*	117,18 ± 3,19*	141,32 ± 0,20*
Концентрация ионов $Pb^{2+}$ , М	13-е сутки	17-е сутки	20-е сутки	
Контроль	89,85 ± 1,41	138,16 ± 1,22	75,98 ± 0,39	
$10^{-6}$	97,22 ± 0,44*	119,07 ± 1,15*	64,41 ± 0,72*	
$10^{-7}$	138,98 ± 0,98*	132,59 ± 0,66*	33,04 ± 0,15*	
$10^{-8}$	143,45 ± 1,82*	139,35 ± 0,57	157,65 ± 1,29*	

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

В среде с концентрацией  $Pb^{2+}$   $10^{-8}$  М внутриклеточный белок накапливался линейно и на 20-е сутки в сравнении с 1-ми его концентрация увеличилась в 1,8 раза. В среде с концентрацией  $Pb^{2+}$   $10^{-6}$  М максимальный прирост белка наблюдался на 17-е сутки, что в 1,2 раза меньше контроля;  $10^{-7}$  М – на 13-е сутки, что в 1,6 раза больше контроля;  $10^{-8}$  М – на 20-е сутки, что в 2,0 раз больше контроля (таблица).

Результаты исследования свидетельствуют о концентрационной зависимости накопления внутриклеточного белка хлореллой от ионов свинца в среде культивирования, т.е. чем ниже концен-

трация ионов свинца, тем выше концентрация внутриклеточного белка. Низкие концентрации ацетата свинца ( $10^{-6}$ – $10^{-8}$  М), не оказывают отрицательного влияния на динамику накопления внутриклеточного белка *Ch. vulgaris*, а после длительного культивирования культуры способствуют его накоплению ( $10^{-7}$ – $10^{-8}$  М).

### Список использованных источников

1. Ильючик, И. А. Физиолого-биохимическое состояние клеток хлореллы при депривации в питательной среде источника азота –  $\text{KNO}_3$  / И. А. Ильючик, Л. О. Захаревич, В. Н. Никандров // Пинские чтения : материалы I международной научно–практической конференции, Пинск, 15-16 сентября 2022 г. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.] ; редкол.: В.И. Дунай [и др.]. – Пинск : ПолесГУ, 2022. – С. 205–208.
2. Какарека, С. В. Динамика содержания свинца в атмосферном воздухе / С. В. Какарека. – Минск, 2018. – С. 467–477.
3. Титов, А. Ф. Влияние свинца на живые организмы/ А. Ф. Титов, Н. М. Казнина, Т. А. Карапетян, Н. В. Доршакова. – Петрозаводск, 2020. – Т.81, №2. – С. 147–160.
4. Fitri, W.E. Removal of heavy metals using *Chlorella vulgaris* / W.E. Fitri, Adewirli Putra, Fuji Astuti Febria // J. Katalisator, 2024. – С. 148–162.
5. Duangrat I. Sorption of mercury, cadmium and lead by microalgae / Duangrat Inthorna, Nalin Sidtitoona, Suthep Silapanuntakula, Aran Incharoensakdib. – ScienceAsia, 2002. – С. 253–261.
6. Кологрив, Д. В. Влияние ионов свинца на накопление биомассы *Chlorella vulgaris* / Д. В. Кологрив ; науч. рук. И. А. Ильючик // 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. 220–223.
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.