УДК 582:577.121:57.044:546.56/.81

ФЕРМЕНТНЫЕ МАРКЕРЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У ВОДОРОСЛЕЙ: ИОНЫ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ КАК ФИЗИОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

А.А. Шелег, 4 курс, лаборант
Научный руководитель – **И.А. Ильючик,** к.б.н., доцент
Полесский государственный университет

Антропогенное загрязнение водных экосистем ионами тяжелых металлов (ТМ), в частности медью (Cu^{2+}) и свинцом (Pb^{2+}), представляет серьезную угрозу для фотоавтотрофных микроорганизмов, являющихся первичным звеном трофических цепей. Цианобактерии и диатомовые водоросли, обладая высокими адаптационными способностями, служат удобными модельными объектами для изучения механизмов токсического действия и клеточного ответа на стресс [1, с. 45]. Углеводный обмен, как центральный процесс энергетического и пластического метаболизма, одним из первых реагирует на изменение условий среды, а активность его ключевых ферментов может выступать чувствительным биомаркером физиологического состояния клетки [4, с. 112].

Цель настоящего обзора – охарактеризовать методологические подходы к исследованию влияния ионов Cu^{2+} и Pb^{2+} в микромолярных концентрациях на ферментные системы углеводного обмена модельных организмов *Pinnularia diatomophyta* и *Spirulina platensis* при культивировании на стандартных средах Тамия и Зарука соответственно [2, с. 10].

Цианобактерии и диатомовые водоросли представляют собой фототрофные микроорганизмы, играющие ключевую роль в глобальном углеродном цикле и являющиеся важными продуцентами органического вещества в водных экосистемах [1, с. 45]. Углеводный обмен в клетках этих организмов осуществляется через сложную сеть метаболических путей, включающих цикл Кальвина-Бенсона-Бассхема (ЦКББ), гликолиз, глюконеогенез и пентозофосфатный путь [2, с. 28].

Ключевыми ферментами углеводного обмена у цианобактерий являются: гексокиназа (ГК, ЕС 2.7.1.1), пируваткиназа (ПК, ЕС 2.7.1.40), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ, ЕС 1.1.1.49) и фруктозо-1,6-бисфосфатаза (ФБФаза, ЕС 3.1.3.11) [3, с. 89]. Данные ферменты катализируют лимитирующие стадии метаболических путей и их активность может служить чувствительным биохимическим маркером функционального состояния клеток под воздействием различных факторов среды [3, с. 91].

Ионы тяжелых металлов, в частности меди (Cu^{2+}) и свинца (Pb^{2+}), являются важными физиолого-биологическими факторами, оказывающими как эссенциальное, так и токсическое действие на

микроорганизмы. Медь в микромолярных концентрациях необходима как кофактор ферментов антиоксидантной системы и фотосинтетического электронного транспорта, тогда как свинец не обладает биологической функцией и проявляет выраженную токсичность даже в низких концентрациях [4, с. 238].

Для цианобактерии *S. platensis* по росту составляет ~0,8 мг/л для Cu^{2+} и ~3,5 мг/л для Pb^{2+} [6, с. 396]. При этом уже при 0,1-0,2 мг/л Cu^{2+} подавляется фотосинтетическая фиксация CO_2 [5, с. 230], а при 1,0 мг/л Cu^{2+} угнетается активность гликолитических ферментов (гексокиназы и пируваткиназы) [6, с. 397]. Для диатомовых водорослей (в т.ч. близких к *Pinnularia*) порог токсичности Cu^{2+} ниже: 0,01–0,05 мг/л вызывают нарушение синтеза крахмала, а 0,1 мг/л и выше полностью подавляют гликолиз [4, с. 234-236]. Свинец менее токсичен: у диатомей значимое ингибирование гексокиназы наблюдается при 0,5–1,0 мг/л, а у *S. platensis* – только при >2 мг/л [4, с. 238; 6, с. 397].

Губительные концентрации Cu^{2+} и Pb^{2+} для исследуемых объектов.

По данным литературы, для цианобактерии *S. platensis* концентрация Cu^{2+} более 2,0 мг/л вызывает 100% гибель культуры в течение 7-10 суток, тогда как для Pb^{2+} полная гибель наступает лишь при >10 мг/л [5, с. 230; 6, с. 397]. Диатомовые водоросли, близкие к *Pinnularia*, более чувствительны к меди: губительной является доза Cu^{2+} выше 0,2 мг/л, для свинца – выше 2,0 мг/л [4, с. 236-238].

В качестве модельных объектов исследования выбраны цианобактерия *Spirulina platensis* (культивирование на среде Зарука) и диатомовая водоросль *Pinnularia diatomophyta* (среда Тамия). Оба организма широко применяются в биотехнологии и характеризуются высокой скоростью роста. Концентрации металлов заданы в диапазоне от фоновых до умеренно-токсических: 0,001; 0,01; 0,1 и 1,0 мг/л, что при пересчете в молярные единицы с учетом атомных масс (Cu – 63,5 г/моль, Pb – 207,2 г/моль) соответствует следующим концентрациям в среде культивирования:

C (мкмоль/л)=M (г/моль)C (мг/л)×1000

- Cu^{2+}: 0,0157 мкмоль/л; 0,157 мкмоль/л; 1,57 мкмоль/л; 15,7 мкмоль/л.
- Pb^{2+}: 0,00483 мкмоль/л; 0,0483 мкмоль/л; 0,483 мкмоль/л; 4,83 мкмоль/л.

Такой диапазон позволяет оценить как эффект сверхнизких доз (возможный гормезис), так и проявление явного ингибирования метаболических путей.

Для оценки физиолого-биохимического состояния планируется определить активность ключевых ферментов углеводного обмена: гексокиназы (ГК), пируваткиназы (ПК), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) и малатдегидрогеназы (МДГ). Культивирование проводят в светокультуральных камерах при 26-28 °С, освещённости 5000-6000 лк и фотопериоде 12/12 ч в течение 14–21 суток. Биомассу собирают центрифугированием, разрушают ультразвуком, активность ферментов определяют спектрофотометрически при 340 нм.

Ожидается, что действие Cu^{2+} и Pb^{2+} будет иметь дозозависимый характер и различаться для прокариотического и эукариотического объектов. При низких концентрациях Cu^{2+} (0,0157-0,157 мкмоль/л) у S. platensis вероятна активация Г6ФДГ (пентозофосфатный путь для синтеза NADPH) и умеренное повышение активности ГК и ПК. Высокие концентрации Cu^{2+} (15,7 мкмоль/л) вызовут ингибирование ПК и МДГ вследствие окислительного стресса. Pb^{2+}, не обладая физиологической ролью, проявит токсичность уже при 0,483 мкмоль/л для P. diatomophyta (ингибирование МДГ), тогда как S. platensis может сохранять активность Г6ФДГ до 4,83 мкмоль/л Pb^{2+} за счёт мощной антиоксидантной защиты.

Таким образом, использование ферментных маркеров углеводного обмена позволяет оценить физиолого-биологическое состояние цианобактерий и диатомовых водорослей при загрязнении ионами тяжёлых металлов. Полученные данные могут быть применены для разработки экспресс-методов биомониторинга водных объектов, а также для оптимизации условий культивирования цианобактерий в биотехнологических целях [6, с. 396].

Список использованных источников

1. Лисовский, Г.М. Управляемое культивирование микроводорослей / Г.М. Лисовский. – Издательство Московского университета, 2013. – 256 с.

2. Среда Зарука и Тамия: приготовление и применение в альгологических исследованиях : учебно-методическое пособие / под ред. Т.К. Головко. – Сыктывкар : Изд-во СГУ им. Питирима Сорокина, 2019. – 56 с.

3. Крупина, М.В. Накопление тяжелых металлов морскими макроводорослями. Экологические и физиологические аспекты: дис. Канд. биол. наук / М.В. Крупина. – Севастополь, 2005. – 120 с.

4. Никаноров, А.М. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах / А.М. Никаноров, А.В. Жулидов. – Л. : Гидрометеоиздат, 1991. – 246 с.

5. Зарук, К. Вклад в изучение цианофицеи. Влияние различных физических и химических факторов на рост и фотосинтез Spirulina maxima / К. Зарук // Ph.D. thesis. University of Paris. – 116. – 230 с.

6. Гаврилеску, М. Исследование развития Spirulina platensis (Arthrospira) под влиянием тяжелых металлов как потенциального средства очистки сточных вод / М. Гаврилеску // Water. – 2023. – Vol. 15, № 22. – с. 396-397.

7. Ильючик, И.А. Влияние уровня ортофосфата в питательной среде на рост культуры Pinnularia Diatome и содержание внутриклеточного белка / И.А. Ильючик, П.Г. Красовский, В.Н. Никандров // Вестник Полесского государственного университета. – 2025.