

**НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ**

На правах рукопису

НЕЗБРИЦЬКА Інна Миколаївна

УДК 58.036(582.263+582.232)

**ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ
CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA ЗА УМОВ ПІДВИЩЕННЯ
ТЕМПЕРАТУРИ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА**

03.00.17 – гідробіологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Науковий керівник

Ліщук Алефтіна Вікторівна

доктор біологічних наук,

старший науковий співробітник

Київ-2017

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ВОДОРОСТЕЙ ДО ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР (огляд літератури).....	11
1.1. Структурно-функціональні перебудови фотосинтетичного апарату водоростей при тепловій адаптації.....	12
1.2. Температурно-залежні зміни ліпідного складу мембран і терморезистентність водоростей	15
1.3. Роль білків теплового шоку в стійкості водоростей до високих температур	18
1.4. Зміни в дихальному метаболізмі водоростей при тепловій адаптації.....	22
1.5. Зміни в азотному метаболізмі водоростей як один з механізмів формування їх стійкості до високих температур.....	24
1.6. Роль антиоксидантної системи в адаптації водоростей до високотемпературного стресу.....	25
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	31
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ РІЗНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ ТА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ПРЕДСТАВНИКІВ CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA.....	38
3.1. Динаміка сухої маси культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температур.....	38
3.2. Зміни вмісту хлорофілу <i>a</i> та каротиноїдів у біомасі культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температур.....	43
3.2.1. Динаміка вмісту хлорофілу <i>a</i>	44
3.2.1. Динаміка сумарного вмісту каротиноїдів.....	49
3.3. Вплив температурного чинника на вміст хлорофілу <i>a</i> та каротиноїдів у фітопланктоні (на прикладі затоки Оболонь Канівського водосховища)	56

3.3.1. Характеристика абіотичних чинників.....	57
3.3.2. Фітопланктон прибережної ділянки затоки Оболонь.....	59
3.3.3. Зв'язок між вмістом фотосинтетичних пігментів і біомасою фітопланктону.....	63
3.3.4. Залежність вмісту фотосинтетичних пігментів фітопланктону від абіотичних чинників	64
3.4. Вплив температури та сумісна дія різних абіотичних чинників на вміст фікобіліпротейнів у культур <i>Cyanoprokaryota</i>	69
РОЗДІЛ 4. ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ДИХАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ПРЕДСТАВНИКІВ <i>CHLOROPHYTA</i> ТА <i>CYANOPROKARYOTA</i> ЗА РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУР.....	78
4.1. Активність сукцинатдегідрогенази.....	78
4.2. Активність цитохромоксидази.....	82
РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ ПІДВИЩЕНИХ ТЕМПЕРАТУР НА АКТИВНІСТЬ ГЛУТАМАТДЕГІДРОГЕНАЗИ КУЛЬТУР <i>CHLOROPHYTA</i> ТА <i>CYANOPROKARYOTA</i>	90
РОЗДІЛ 6. СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПРЕДСТАВНИКІВ <i>CHLOROPHYTA</i> ТА <i>CYANOPROKARYOTA</i> ЗА ДІЇ ПІДВИЩЕНИХ ТЕМПЕРАТУР.....	99
6.1. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів.....	99
6.2. Зміни активності ферментів антиоксидантної системи захисту.....	103
6.2.1. Активність супероксиддисмутази.....	103
6.2.2. Активність каталази	108
6.2.3. Активність глутатіонпероксидази	112
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	118
ВИСНОВКИ.....	126
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	129

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

АДФ – аденозиндифосфат

АПО – аскорбатпероксидаза

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активні форми кисню

АФЦ – алофікоціанін

Б – біомаса

БТШ – білки теплового шоку

ГДГ – глутаматдегідрогеназа

ГПО – глутатіонпероксидаза

ГПЛ – гідропероксиди ліпідів

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ДК – дієнові кон'югати

КАТ – каталаза

МДА – малоновий диальдегід

НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений

нмБТШ – низькомолекулярні білки теплового шоку

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

РОР – розчинена органічна речовина

СДГ – сукцинатдегідрогеназа

СОД – супероксиддисмутаза

С-ФЕ – с-фікоеритрин

С-ФЦ – с-фікоціанін

ФБП – фікобіліпротеїни

Хл. *a* – хлорофіл *a*

ЦХО – цитохромоксидаза

Σкар. – сумарний вміст каротиноїдів

ВСТУП

Актуальність теми. Однією з найважливіших екологічних проблем сьогодення є глобальні зміни клімату та пов'язане з ним збільшення середньорічних та максимальних температур [7, 111]. Особливо суттєво потепління відбивається на стані водних екосистем. Його наслідками є зміна умов існування гідробіонтів, що призводить до зростання кількості стресів, з якими змушені стикатися живі організми [185, 297].

Як відомо, провідна роль у функціонуванні прісноводних екосистем належить мікрowodоростям, за рахунок фотосинтезу яких створюється фонд органічної речовини, що становить енергетичну основу для всіх наступних етапів продукційного процесу у водоймі [77]. Водоростям властивий широкий діапазон термостійкості. Вони здатні існувати в крайніх температурних умовах – як у гарячих джерелах, температура яких близька до точки кипіння води, так і на поверхні льоду та снігу, де її величини коливаються близько 0 °C [16]. Поряд із пристосованістю водоростей до певних температур важливе значення для можливості їх розселення та існування у різних умовах має діапазон граничних значень температур, при яких можуть виживати види. Для різних видів він неоднаковий і може значно відрізнятися, як і оптимальні температури їх вегетації [248].

Оскільки у рослин відсутні механізми теплової регуляції, вони змушені постійно адаптуватися до коливань температури середовища існування [85]. У літературі є багато відомостей щодо особливостей функціонування термофільних водоростей за умов постійного впливу високих температур [144, 151, 268]. Разом з тим закономірності змін фізіолого-біохімічних показників водоростей, що пристосовані до існування при помірних температурах, до їх підвищення досліджені недостатньо. Враховуючи потепління клімату і пов'язане з ним збільшення як середньорічних, так і максимальних температур води, інформація такого плану важлива для розкриття механізмів адаптації автотрофної ланки водних екосистем до цих

умов, та становить інтерес для прогнозування структурно-функціональних змін у фітопланктоні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась в Інституті гідробіології НАН України в рамках державної науково-дослідної теми «Особливості впливу абіотичних чинників на структурно-функціональні характеристики прісноводних водоростей та їх здатність продукувати біологічно цінні сполуки» (№ ДР 0113U000001).

Мета роботи – встановити закономірності впливу підвищених температур на функціонування поширених у водоймах України видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota, а також розкрити фізіолого-біохімічні механізми їх адаптації до цих умов.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- дослідити динаміку біомаси представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за температур культивування 20, 26, 32 та 38°C;
- вивчити динаміку змін концентрації хлорофілу *a* та каротиноїдів у культурах Chlorophyta та Cyanoprokaryota при різних температурах вирощування;
- встановити зв'язок між вмістом фотосинтетичних пігментів у біомасі фітопланктону та температурою води у літній сезон в затоці Оболонь Канівського водосховища;
- з'ясувати зміни вмісту фікобіліпротеїнів у біомасі ціанопрокаріот (на прикладі *Phormidium autumnale* f. *uncinata*) за впливу підвищеної температури культурального середовища та сумісної дії декількох абіотичних чинників;
- дослідити активність ферментів дихального метаболізму у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температурних умов;

- вивчити вплив підвищених температур на активність глутаматдегідрогенази в культурах Chlorophyta та Cyanoprokaryota;
- встановити реакцію прооксидантної та антиоксидантної систем культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota на дію підвищених температур водного середовища.

Об’єкти дослідження: культури деяких видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota, фітопланктон затоки Оболонь Канівського водосховища.

Предмет досліджень: функціональні зміни у клітинах водоростей за різних температурних умов водного середовища.

Методи дослідження: загальноприйняті методи культивування мікробіодоростей; спектрофотометрія при визначенні вмісту пігментів, білків, ліпідів, активності ферментів, продуктів перекисного окиснення ліпідів; загальновизнані методи відбору та опрацювання проб фітопланктону; методи гідрохімічного аналізу; методи статистичної обробки отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлено кількісні залежності між вмістом фотосинтетичних пігментів (хлорофіл *a* та сума каротиноїдів) у біомасі літнього фітопланктону мілководдя Канівського водосховища та температурою води.

На культурах Chlorophyta та Cyanoprokaryota показано роль ферментів дихального та азотного метаболізму при їх адаптації до дії високих температур.

Вперше встановлено зміни активності ферментів-антиоксидантів (супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза) у культур зелених водоростей та ціанопрокаріот в залежності від температури їх вирощування та віку.

Виявлено, що у захисті клітин водоростей від оксидативного стресу, що виникає під впливом високих температур, ключова роль належить неферментативним компонентам антиоксидантної системи – каротиноїдам та фікобіліпротеїнам.

Отримано нові результати щодо комбінованого впливу низки абіотичних чинників на вміст у біомасі ціанопрокаріот водорозчинних пігментів – фікобіліпротеїнів (с-фікоеритрин, с-фікоціанін та алофікоціанін).

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати становлять інтерес для розкриття фізіолого-біохімічних механізмів адаптації водоростей до впливу несприятливих температур середовища існування.

Встановлені кількісні залежності між концентрацією хлорофілу *a* у біомасі літнього фітопланктону Канівського водосховища та температурою води важливо враховувати при моделюванні впливу абіотичних чинників на вміст хлорофілу *a* у фітопланктоні.

Розроблений спосіб підвищення виходу фікобіліпротеїнів з біомаси ціанопрокаріот, захищений патентом, можна застосовувати у біотехнологічній практиці при отриманні цих біологічно активних сполук, що мають широкий спектр застосування.

Висновки роботи можуть бути використані в процесі викладання навчальних курсів з гідробіології, екології та фізіології рослин для студентів вищих навчальних закладів.

Особистий внесок здобувача. Дисертація базується на результатах експериментальних робіт, одержаних авторкою особисто. Здобувачка самостійно підготувала огляд фахової літератури, підбрала та освоїла необхідні методики, опрацювала й узагальнила отримані результати, а також сформулювала висновки, особисто або у співавторстві підготувала до друку наукові праці, в яких викладені основні положення дисертації. Формулювання мети, завдань та інтерпретація отриманих результатів проведені за участю наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень оприлюднені на міжнародній конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Щолкіне, 2013); Науково-практичній конференції, присвяченій 95-річчю заснування Національної академії наук України «Актуальні проблеми сучасної гідроекології» (Київ, 2013); III

Міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології» (Донецьк, 2014); V Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених та студентів «Біологічні дослідження» (Житомир, 2014); Науково-практичній конференції, присвяченій 75-річчю заснування Інституту гідробіології Національної академії наук України «Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем» (Київ, 2015); VII з'їзді Гідроекологічного товариства України (Київ, 2015).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 16 наукових робіт, із них: 7 – статті у фахових наукових журналах, 2 – статті в інших наукових періодичних виданнях, 1 – патент України на корисну модель, 6 – матеріали та тези конференцій.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 128 сторінках. Вона складається зі вступу, огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, чотирьох розділів з висвітленими результатами власних досліджень, узагальнення, висновків та списку використаної літератури, який налічує 305 найменувань, в тому числі 178 латиною. Текст ілюстровано 39 рисунками і 9 таблицями.

РОЗДІЛ 1

МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ВОДОРОСТЕЙ ДО ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Температура є одним із найважливіших екологічних чинників, що впливає на інтенсивність обміну речовин у гідробіонтів, а також темпи їх розвитку. З температурою води тісно пов'язані географічне поширення та продуктивність водоростей [248, 285]. По відношенню до цього чинника серед водоростей розрізняють евритермні види, що існують в широкому температурному діапазоні, і стенотермні, пристосовані до існування у вузьких температурних межах. До перших, наприклад, відноситься діатомея *Nitzschia putrida* (Cohn) Benecke, температурний діапазон існування якої складає від -11 до $+30$ °C [95]. Евритермними є також зелені водорості з порядку Oedogoniales, вони зустрічаються у мілководних водоймах з ранньої весни до пізньої осені [16, 105]. Стенотермні водорості можуть бути холодо- та теплолюбні. Холодолюбні (або кріофіли) ростуть лише при температурі, близькій до точки замерзання води. На поверхні льоду та снігу можна зустріти представників зелених водоростей з порядків Desmidiaceae, Ulotrichales, Volvocales тощо. У водах Арктики та Антарктики знайдено понад 80 видів кріофільних діатомових водоростей [16].

Водорості, що витримують високі температури, відносять до термофілів. У цій групі можна знайти представників усіх відділів, але особливо багато серед них синьозелених. Для термофільних водоростей наводяться наступні максимальні температури існування: для синьозелених – $85,2$ °C, для зелених – $60-65$ °C, для діатомових – 50 °C. Переважна більшість водоростей інтенсивно розвивається в умовах звичайних температур, тобто є мезофільними видами [105].

Як відомо, підвищення температури відноситься до числа найбільш екстремальних впливів, які навколишнє середовище може чинити на

організми (у тому числі і водорості) [4]. Безпосередньою реакцією на температурний вплив є зміна текучості мембран. Під впливом високої температури в мембранах збільшується кількість ненасичених фосфоліпідів. В результаті склад і структура мембрани змінюються і, як наслідок, відбувається збільшення її проникності [120]. Підвищення температури понад оптимальний рівень порушує швидкість ферментативних реакцій у клітині, а подальше її зростання супроводжується денатурацією багатьох білків, що призводить до метаболічного дисбалансу. Іншим аспектом теплового стресу є збільшення продукції в клітині активних форм кисню, що може спричинити оксидативний стрес [113, 131]. В цих умовах для виживання та забезпечення життєдіяльності вкрай важливим є функціонування систем підтримання клітинного гомеостазу. У водоростей за впливу високих температур підтримання клітинного гомеостазу забезпечує робота цілої низки захисних систем, серед яких найважливішими є синтез білків теплового шоку, зміна жирнокислотного складу мембранних ліпідів, структурно-функціональні перебудови фотосинтетичного апарату та дихального ланцюга, а також зміни в роботі антиоксидантної системи захисту.

1.1. Структурно-функціональні перебудови фотосинтетичного апарату водоростей при тепловій адаптації

У низці робіт показано, що підвищення стійкості водоростей до несприятливих умов існування відбувається за рахунок адаптивним перебудовам на рівні їх фотосинтетичного апарату, що дозволяє оптимізувати фотосинтетичні процеси за дії стресових чинників [157, 204, 210, 300], як це показано і для інших фотосинтезуючих рослин.

Тепловий стрес є одним із найбільш значущих негативних факторів, здатних впливати на фотосинтетичну продуктивність водоростей. За дії високої температури відбувається інактивація ключових ферментів

фотосинтезу, інгібування фотофосфорилування, порушення роботи електронно-транспортного ланцюга хлоропластів, нагромадження активних форм кисню, а також знебарвлення хлорофілу [59, 129]. Як відомо, у відповідь на підвищення температури існування у рослин активується ряд процесів, що сприяють термостійкості фотосинтетичного апарату [2].

У водоростей, як і у вищих рослин, найбільш стійким компонентом фотосинтетичного апарату до дії несприятливих температур є фотосистема I [197, 204, 220]. Разом з тим, найбільшою чутливістю до високої температури характеризується фотосистема II [231]. Вважають, що інактивація фотосистеми II за умов високотемпературного стресу, в першу чергу, пов'язана із руйнуванням манганвмісного кластеру (так званого водорозщеплювального комплексу), що каталізує окиснення води до кисню [220, 287]. Багато дослідників намагались розкрити механізми захисту фотосистеми II від теплової інактивації. Було висунуто припущення, що білки теплового шоку [167, 184, 284], каротиноїди ксантофілового циклу [183] та ізопрен [269] можуть захищати цей компонент фотосинтетичного апарату водоростей від негативних наслідків теплового стресу.

Деякі автори пов'язували термостійкість фотосистеми II із рівнем насиченості ліпідів тилакоїдних мембран [246, 286]. Проте слід відмітити, що експерименти проведені пізніше на прикладі мутанта ціанобактерії *Synechocystis* PCC6803 та вищих рослинах, не підтвердили припущення про те, що насиченість мембранних ліпідів може бути важливою у термостабільності водорозщеплювального комплексу [220, 224, 295].

Біохімічні дослідження тилакоїдних мембран *Synechococcus* sp. PCC 7002 дозволили ідентифікувати два білка – цитохром c550 і PsbU, як чинники, що захищають водорозщеплювальний комплекс від теплової інактивації [229, 230]. Цитохром c550 і PsbU є зовнішніми білками фотосистеми II, що були виявлені у ціанобактерій [272, 278] та червоних водоростей [164], проте у вищих рослин вони не знайдені [271]. Ці білки експресуються незалежно від температури росту водоростей, і жоден з них не

зазнає ніяких змін при аклімації клітин до впливу високої температури. Встановлено, що інактивація гену *psbU* у *Synechococcus* sp. PCC 7002 призвела до зниження не лише термостабільності водорозщеплювального комплексу, але і загальної терморезистентності клітин ціанобактерії [231].

Оскільки фотосинтетична активність водоростей залежить від функціонування ферментів циклу Кальвіна, адаптація фотосинтетичного апарату до несприятливих температур може бути опосередковано пов'язана зі зміною їх активності. Одним з ключових ферментів циклу Кальвіна є Рубіско (рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксилаза) [158, 204]. Він, як відомо, каталізує дві конкурентні реакції: приєднання вуглекислого газу до рибулозо-1,5-біфосфату на першій стадії циклу Кальвіна, а також первинну реакцію окиснення рибулозобіфосфату у процесі фотодихання [43, 114]. Показано, що у вищих рослин зі збільшенням температури середовища від 5 до 50 °C карбоксилазна активність ферменту зростає [260]. Виявлено, що у червоної водорості *Lomentaria* sp. з підвищенням температури також спостерігається зростання функціональної активності Рубіско [204], що дозволяє, очевидно, їй зберігати високий рівень фотосинтетичної продуктивності за цих умов. Слід відмітити, що стресові температури безпосередньо впливають не лише на кількісні, але і на якісні параметри Рубіско. Встановлено, що в умовах впливу теплового шоку відбуваються конфірмаційні зміни в молекулі зазначеного ферменту, які сприяють адаптації до стресу [43].

В літературі є відомості про те, що за екстремально високих та низьких температур у рослин відбувається порушення фотосинтезу за рахунок зниження їх здатності використовувати енергію світла [159, 161]. Тому адаптація фотосинтетичного апарату водоростей до стресових температур досягається шляхом зміни розмірів антенного комплексу. При підвищенні температури середовища існування водоростей відбувається посилення накопичення фотосинтетичних пігментів в їх клітинах [152, 159, 245, 300], що призводить до збільшення рівня поглинання ними сонячної енергії. Встановлено, що за впливу температури культурального середовища 32 °C

порівняно з 20 °C у *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler вміст хлорофілу *a* збільшився у 1,5 рази, а у *Spirulina fusiformis* Voronikhin у відповідь на підвищення температури з 20 до 37 °C – у 2 рази [245]. На прикладі ціанопрокаріоти *Arthronema africanum* (Schwabe & Simonsen) [152] та бурої водорості *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt [300] було показано, що зі збільшенням температури зростає вміст не тільки хлорофілу *a*, але й каротиноїдів та фікобіліпротейнів.

1.2. Температурно-залежні зміни ліпідного складу мембран і терморезистентність водоростей.

Ключове місце у формуванні клітинного відгуку на зміни навколишнього середовища займають біологічні мембрани, які, як відомо, є однією з універсальних систем передачі інформації. В здійсненні цих та інших фундаментальних функцій мембран активну участь бере ліпідний матрикс, який є первинною мішенню для багатьох факторів навколишнього середовища і, перш за все, найбільш потужного з них – температури [94].

Деякі автори вважають, що адаптація до екстремальних температур пов'язана переважно зі змінами в складі та співвідношенні мембранних ліпідів [215]. Однією із найважливіших неспецифічних реакцій на вплив високих температур є зміна фізичних властивостей мембранних ліпідів. Відомо, що підвищення температури викликає зростання плинності ліпідного бішару мембрани, який, зрештою, може стати проникним для іонів [113; 156]. Внаслідок тісної взаємодії ліпідних та білкових компонентів в мембранах зміни у властивостях ліпідів повинні неминуче впливати і на функції мембранних білків [119]. Ці зміни в клітинних мембранах є необхідними для запуску відповіді на стресові впливи.

Як відомо, основна частина ліпідів біологічних мембран водоростей представлена полярними ліпідами, зокрема, гліколіпідами та фосфоліпідами, хоча деякі види також містять нетипові ліпіди [175].

У більшості видів водоростей основними гліколіпідами є моногалактозилдигліцерид, дигалактозилдигліцерид і сульфохіновозилдіацилгліцерид. Крім цих загальних гліколіпідів у деяких водоростей виявлені нетипові ліпіди. Так, тригалактозилгліцерид знайдено у *Chlorella* sp. З морської червоної водорості *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss виділено сульфохіновозилмоногалактозилгліцерид [276]. В літературі є відомості щодо низки нових гліколіпідів у трьох бурих водоростей *Fucus serratus* Linnaeus, *Fucus vesiculosus* Linnaeus та *Pelvetia canaliculata* (Linnaeus) Decaisne and Thuret [176].

Основними фосфоліпідами у водоростей є фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін та фосфатидилгліцерин [176]. Останній, як відомо, – єдиний фосфоліпід Cyanoprokaryota. Встановлено, що водорості можуть містити в істотних кількостях також фосфатидилсерин, фосфатидилінозитол та дифосфатидилгліцерин (або кардіоліпін) [15].

У деяких водоростей виявлено незвичайні сульфовмісні ліпіди. Сульфонієвий аналог фосфатидилхоліну – фосфатидилсульфохолін – знайдений в клітинах *Euglena* sp., а також у представників червоних та діатомових водоростей. У діатомеї *Nitzschia alba* J.C. Lewin and R.A. Lewin фосфатидилсульфохолін повністю заміщує фосфатидилгліцерин [176]. Багато прісноводних водоростей містять хлорсульфоліпіди. Наприклад, у *Ochromonas danica* E.G. Pringsheim на їх частку припадає до 15 % від загального вмісту мембранних ліпідів [175].

Оскільки полярні ліпіди є основними компонентами мембран, то зміни в цих компонентах можуть відбиватися на зміні ступеня термостабільності мембран. Підвищення температури до деяких критичних меж призводить до надвисокої плинності ліпідів та дезінтеграції мембран, тому в термостійких рослин модифікації ліпідів спрямовані на підвищення структурної міцності бішару та температури фазового переходу ліпідів. Основний механізм регуляції температури фазового переходу при зміні температурних умов полягає в зміні жирнокислотного складу ліпідів [35, 113].

При дії стресора можуть відбуватися зрушення у співвідношенні різних груп жирних кислот, змінюється ступінь їх ненасиченості. Крім цього можлива зміна довжини ланцюгів жирних кислот, позиційного розташування подвійних зв'язків, кількості полярних груп [119]. Пристосування до підвищених температур пов'язане з включенням в ліпіди жирних кислот з довшими вуглеводневими ланцюгами і з меншим числом подвійних зв'язків [113].

Водорості, як правило, містять такі ж самі жирні кислоти, як і вищі рослини, хоча в дещо іншій пропорції. C_{14} - C_{22} жирні кислоти зазвичай складають більше 98% від загальної суми жирних кислот [182]. З ростом температури у водоростей спостерігається зниження кількості ненасичених та підвищення вмісту насичених жирних кислот [187; 234; 281].

Сущик М.М. і співавтори, досліджуючи вплив температури середовища на склад внутрішньоклітинних жирних кислот у ціанопрокаріоти *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler і в еукаріотичних мікроводоростей *Chlorella vulgaris* та *Botryococcus braunii* Kützinger встановили, що температурна реакція внутрішньоклітинного складу ЖК була схожою у всіх вивчених видів. Незалежно від їх таксономічної приналежності при підвищенні температури відносний вміст більш ненасичених жирних кислот зменшувався [281].

При підвищенні температури від 18 до 28 °C у *Pavlova lutheri* (Droop) J.C. Green спостерігалось зниження вмісту ейкозапентаєнової кислоти та докозагексаєнової у 3 і більше разів, у *Dunaliella tertiolecta* Butcher гамма-ліноленової кислоти приблизно у 2 рази, а в *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin вміст ейкозапентаєнової кислоти знизився у 4,5 рази [9].

Показано, що влітку при вищій температурі розвивалися популяції видів діатомей з низьким вмістом ейкозапентаєнової кислоти, навесні ж навпаки – з високим вмістом цієї кислоти [282]. Адаптація жирнокислотного складу ліпідів пояснюється необхідністю підтримання певного ступеня в'язкості клітинних мембран, оптимального за даної температури [106].

Р.В. Холтон із співавторами вивчали вплив підвищеної температури на склад жирних кислот у *Anacystis nidulans* (Richt.) Drouet and Daily. Результати показали, що при всіх досліджених температурах (26, 32, 35 і 41 °С) пальмітинова і гексадеценова кислоти становили приблизно 90 % від загальної кількості жирних кислот. Співвідношення загального вмісту ненасичених жирних кислот до насичених залишалося незмінним при 26, 32 і 35 °С і було рівним приблизно 1, але при 41 °С воно змінилося до 0,7, що свідчить про збільшення вмісту насичених жирних кислот [187].

В адаптації водоростей до високих температур, очевидно, відіграє важливу роль і лауринова кислота. Г.Дж Олсон із співавторами досліджуючи вплив високих температур на жирнокислотний склад ліпідів у *Agmenellum quadruplicatum* (Meneghini) Brebisson встановили, що лауринова кислота не виявлена при 20 °С, але при 43 °С вона становила 16,3 % від загальної кількості жирних кислот [234].

1.3. Роль білків теплового шоку в стійкості водоростей до високих температур

Однією із загальних властивостей клітин усіх типів живих організмів, в тому числі і водоростей, є те, що у відповідь на підвищення температури середовища існування активується синтез специфічних білків, так званих білків теплового шоку (БТШ), які допомагають клітині вижити в умовах температурного стресу і повернутися після його припинення до фізіологічної норми [43, 52, 302].

Синтез БТШ у водоростей, як і у інших рослин, відбувається при підвищенні температури на 10–15 °С вище звичайної температури їх росту [163, 172]. Відомо, що теплолюбні види мають більш високий поріг індукції БТШ, ніж види, пристосовані до існування в умовах помірних температур [163].

У ціанобактерії *Synechocystis* sp. PCC 6803 синтез чотирьох білків теплового шоку з молекулярною масою 70, 64, 15 і 14 кДа був індукований шляхом підвищення температури вирощування від 30 до 42,5 °C [211]. У *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard синтез БТШ індукується температурою 36–39 °C, а максимальне їх накопичення спостерігається при 41 °C [284]. Натомість, у *Chlamydomonas acidophila* Negro їх синтез починається за температури 27 °C, а максимальна індукція відбувається при 29 °C [172]. Низька температура індукції синтезу БТШ спостерігається і у інших видів водоростей, наприклад, морської дінофлагеляти *Karenia brevis* (Davis) G. Hansen and Moestrup [222], зелених водоростей *Enteromorpha intestinalis* (Linnaeus) Nees [212] і *Raphidocelis subcapitata* (Korshikov) Nygaard, Komarek, J. Christiansen and O.M. Skulberg [140].

БТШ утворюються в результаті експресії певних генів. «Включення» генів БТШ при дії високої температури визначається регуляторними елементами генів (РЕ БТШ) – специфічними нуклеотидними послідовностями ДНК в промоторній зоні цих генів. РЕ БТШ «включають» гени БТШ після взаємодії зі специфічними регуляторними білками – факторами транскрипції або трансфакторами цих генів, які присутні в цитоплазмі і за нормальних умов [52].

БТШ виявлені практично в усіх компартментах рослинної клітини, що свідчить про їх суттєву роль в найважливіших біохімічних процесах [42]. Порушення структури білків, як правило, призводить до порушення їх функціональної активності, тому надзвичайно важливим є підтримання нативної структури клітинних білків [121]. Однією з основних властивостей БТШ є шаперонна активність, що робить їх універсальними цитопротекторами [35, 38, 64]. Під шаперонною активністю розуміють здатність БТШ розпізнавати і зв'язувати експоновані гідрофобні поверхні ненативних поліпептидних ланцюгів, денатурованих і пошкоджених поліпептидів. БТШ є головними «асистентами» процесу коректного складання (фолдингу) новоутворених поліпептидних ланцюгів. Вони здатні

також прискорювати складання і захоплювати помилково складені поліпептиди для повторного фолдингу. Їх часто називають «рятівниками» фолдингу і захисниками клітини від гідрофобного колапсу ненативних поліпептидних ланцюгів [78].

Згідно із сучасною класифікацією, в основу якої покладено відмінності в молекулярних масах, виділяють п'ять основних класів (родин) БТШ: БТШ 100, БТШ 90, БТШ 70, БТШ 60, низькомолекулярні БТШ та убіквітин. Кожна з родин БТШ виконує характерні функції, пов'язані із забезпеченням здатності рослинного організму витримувати високі температури [35].

Білки родини БТШ 100 відіграють ключову роль в захисті клітини від теплового стресу, вибірково зв'язуючи та відновлюючи структури денатурованих білків, руйнуючи нерозчинні агрегати, які утворюються внаслідок стресу [43; 232]. Вони також беруть участь у формуванні терморезистентності. Було показано, що втрата здатності синтезувати БТШ 100 викликала у клітин ціанобактерії *Synechococcus* sp. PCC 7942 п'ятикратне зниження термостійкості [167].

Білки родини БТШ 90 є ключовими компонентами клітинного гомеостазу як за оптимальних умов росту, так і в умовах стресу. Припускається, що вони беруть участь у зміні стану факторів регуляції транскрипції інших БТШ. В умовах теплового шоку частина молекул БТШ 90 зв'язується з денатурованими молекулами білків, при цьому через дефіцит вільного БТШ 90 відбувається «розблокування» синтезу інших БТШ [299].

Вважається, що білки родини БТШ 70 є основними компонентами еволюційно-консервативної системи захисту від теплового стресу. Деякі з цих білків представлені в клітині за нормальних умов росту, синтез інших індукується лише підвищенням температури. В стресових умовах їхня основна роль полягає в запобіганні агрегації денатурованих білків та їх рефолдингу [43, 163]. БТШ 70 беруть участь у формуванні терморезистентності. Так, було показано, що збільшення вмісту БТШ 70В є

одним з основних чинників, що визначають терmostійкість *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] [127].

Білки родини БТШ 60 беруть участь у фолдингу складних багатодомених білків (таких як актин або тубулін), а також в АТФ-залежному процесі виправлення помилок у структурі частково денатурованих білків. Встановлено, що під дією теплового шоку рівень БТШ 60 збільшується у 2-3 рази [43].

БТШ можуть бути задіяні і в автофагії незворотно пошкоджених білків [38, 163]. Класичним прикладом БТШ, що забезпечує автофагію дефектних білків, є убіквітин. Асоційовані з убіквітином білки піддаються ферментативній модифікації. Після цього вони розпізнаються спеціальними нелізосомальними протеазами і гідролізуються в особливих мультикомпонентних комплексах – протеасомах. Оскільки тепловий шок призводить до появи в клітинах недобудованих та пошкоджених білків, убіквітин може бути корисний для їх видалення [120].

Родина низькомолекулярних білків теплового шоку (нмБТШ) об'єднує білки з молекулярною масою від 12 до 43 кДа. Спільною рисою для всіх нмБТШ є наявність у них α -кристалічного домену – амінокислотної послідовності, що складається з 80–100 залишків, яка розташовується, як правило, на С-кінцевій частині білка [150]. Біосинтез нмБТШ відбувається у відповідь на негативні впливи. Збільшення вмісту нмБТШ при впливі високотемпературного стресу показано у багатьох водоростей: *Chlamydomonas acidophila* [172], *Chlamydomonas reinhardtii* [284], *Synechocystis* PCC 6803 [188, 211], *Synechococcus* sp. PCC 6301 [141]. НмБТШ виконують функції молекулярних шаперонів. Показана здатність нмБТШ зв'язуватися з частково денатурованими білками незалежним від АТФ способом і запобігати їх незворотній агрегації [137]. Також відомо, що нмБТШ беруть участь у стабілізації мембран при тепловому стресі. На прикладі *Synechocystis* PCC 6803 було показано, що зв'язування нмБТШ 17 з мембраною при сублетальному тепловому шоці може служити механізмом

захисту мембран. Встановлено, що нмБТШ 17 є єдиним нмБТШ, що кодується «геном плинності» [188].

1.4. Зміни в дихальному метаболізмі водоростей при тепловій адаптації

Дихання – універсальний процес і фундаментальна основа життя будь-якої живої клітини. Інтермедіати і енергія, що виробляються в процесі дихання, необхідні для синтезу *de novo*, а також підтримання цілісності та функціональної активності клітинних структур. Дихання є показником функціональної стійкості рослин і рівноправним фотосинтезу елементом продукційного процесу [21, 53].

У еукаріотних водоростей [250], як і у вищих рослин, перші етапи дихання протікають в цитоплазмі, а основний продукт гліколізу – піруват – дифундує в спеціалізовані органели – мітохондрії, де піддається окиснювальному декарбоксилюванню в циклі трикарбонових кислот. У реакціях циклу утворюються сполуки з високим відновлювальним потенціалом – НАДН та ФАДН₂. На заключному етапі відновлені еквіваленти окиснюються з утворенням енергії в електронно-транспортному ланцюгу, що локалізується у внутрішній мембрані мітохондрій [21]. Враховуючи те, що у прокаріотних водоростей немає чітко сформованих органел, то ці процеси в них відбуваються в тилакоїдній мембрані [136, 250].

Як відомо, основний дихальний ланцюг усіх водоростей складається із чотирьох мультиферментних комплексів перенесення електронів: комплекс I – НАДН-дегідрогеназа (здійснює перенесення електронів від НАДН до убіхінону), комплекс II – сукцинат дегідрогеназа (каталізує окиснення сукцинату убіхіноном), комплекс III – убіхінон-цитохром *c* оксидоредуктаза (забезпечує перенесення електронів від відновленого убіхінону на цитохром *c*), комплекс IV – цитохромоксидаза (каталізує перенесення електронів від цитохрому *c* на кисень) [250, 293].

Одним із найважливіших факторів зовнішнього середовища, що впливають на інтенсивність процесів дихання водоростей, є температура [158, 179, 249, 305]. Із підвищенням температури у водоростей, як правило, спостерігається посилення дихання [146]. Встановлено, що поглинання кисню ціанопрокаріотою *Coccochloris peniocyctis* (Kützing) Drouet & Daily за температури 40 °C було більшим, ніж за температури 20 °C у 2 рази, а зеленою водорістю *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard за температури 35 °C порівняно з 15 °C – у 3 рази [153]. Зростання швидкості дихання з підвищенням температури також було показано на прикладі фітопланктону озера Лох-Ней [192]. Деякі автори розглядають стимулювання дихання як одну з адаптивних реакцій рослинних організмів на дію високих температур [158, 218].

Було показано, що у зеленої водорості *Chlorella sorokiniana* Shihira & R.W. Krauss з підвищенням температури культурального середовища в діапазоні 10–35 °C інтенсивність дихання поступово зростала, проте за 40 °C спостерігалось уже її зниження [294]. Отже за температурних умов, що є вищі за оптимальні для росту водоростей, відбувається пригнічення дихання.

Однією з причин пригнічення дихання у рослин за несприятливих температур є порушення функціонування основного (цитохромного) електронно-транспортного ланцюга [292]. Проте слід відмітити, що особливістю водоростей, як і інших рослин є те, що у них крім основного транспорту електронів існує ще альтернативний [217, 256]. Цей шлях пов'язаний з функціонуванням альтернативної оксидази, яка є однією з термінальних оксидаз дихального ланцюга. Альтернативна оксидаза відгалужується від основного електронно-транспортного ланцюга на рівні убіхінону і каталізує чотирьохелектронне окиснення відновленого убіхінону киснем до води незалежно від основного дихального ланцюга [256]. На відміну від цитохромоксидази, альтернативна оксидаза характеризується низькою спорідненістю до кисню, проте її активність також регулюється його кількістю [174]. Перенесення електронів через альтернативний

транспорт не сполучений із синтезом АТФ та запасанням енергії. Вважають, що енергетично неефективний альтернативний шлях дихання є специфічним механізмом, що підтримує клітинний гомеостаз і функціонування рослин в різних стресових умовах [21, 256]. Блокування (або інгібування) транспорту електронів по цитохромному ланцюгу призводить до інгібування циклу Кребса та активації гліколізу. Альтернативна оксидаза дає можливість продовжувати функціонувати циклу трикарбонових кислот в умовах, коли цитохромний шлях блокується або обмежується наявністю АДФ [236, 296]. Іншою функцією альтернативної оксидази в рослинній клітині є антиоксидантна, припущення про яку вперше були висунуті у 1993 р [242]. В подальшому було показано участь цього ферменту в зниженні утворення АФК [223, 243].

Низка авторів вважає, що альтернативній оксидазі належить важлива роль в адаптації рослин до високих температур [227, 244, 292]. Активація цього ферменту при тепловому стресі була зареєстрована у зеленої водорості *Chlamydomonas reinhardtii* [301], а також у вищих рослин [244, 267].

1.5. Зміни в азотному метаболізмі водоростей як один з механізмів формування їх стійкості до високих температур

В літературі є відомості про те, що висока температура істотно впливає на азотний метаболізм водоростей [139, 194, 195, 294]. Як відомо, азот – життєво необхідний компонент різних молекул рослинних клітин [75, 114]. Водорості засвоюють мінеральний азот переважно у вигляді йонів NO_3^- та NH_4^+ [251]. Одним з ключових ферментів що бере участь у асиміляції нітратів, є нітратредуктаза [114, 200, 294]. Було показано, що нітратредуктаза мезофільної водорості *Chlorella sorokiniana* Shihira & R.W.Krauss характеризується вищою термостабільністю, ніж кріофільних водоростей *Koliella antarctica* C. Andreoli, G.M. Lokhorst, A.M. Mani, L. Scarabel, I. Moro, N. La Rocca & L. Tognetto та *Chlorella saccharophila* (Krüger) Migula. З

підвищенням температури середовища у всіх вказаних водоростей спостерігалось зростання нітратредуктазної активності, проте у кріофілів максимум її реєструвався за температур 20–25 °С, а у мезофільної водорості – 35 °С. [294].

Ключові позиції при первинній асиміляції і реасиміляції амонію займають глутамінсинтетаза та глутаматдегідрогеназа [207, 221]. Перший фермент каталізує реакцію синтезу глутаміну з глутамату та аміаку. В літературі є відомості, що глутамінсинтетаза є головним ферментом первинної асиміляції амонію в процесі засвоєння рослинами неорганічного азоту [114, 160, 225]. Глутаматдегідрогеназа з НАДН в якості коферменту, каталізує синтез глутамату з 2-оксоглутарату і NH_3 . Вважають, що у водоростей, як і у вищих рослин, глутаматдегідрогеназний шлях асиміляції NH_4^+ є альтернативним [160, 221]. При дії стресових абіотичних чинників у рослин погіршується функціонування основного шляху асиміляції аміаку, а це, в свою чергу, призводить до надмірного накопичення іонів NH_4^+ у клітинах, а також до збільшення активності глутаматдегідрогенази [207, 275]. Глутаматдегідрогеназа характеризується низькою спорідненістю до аміаку, тому вона починає працювати лише при високих концентраціях субстрату [225]. Деякі автори вважають, що глутаматдегідрогеназі належить важлива роль у стійкості рослин та мікроорганізмів до високої температури [178, 202, 263].

1.6. Роль антиоксидантної системи в адаптації водоростей до високотемпературного стресу

Відомо, що тепловий стрес призводить до розвитку в клітинах рослин оксидативного стресу, пов'язаного з надмірною генерацією активних форм кисню (АФК) [143]. До числа останніх відносять похідні кисню радикальної природи: супероксид-радикал (аніон-радикал) $\text{O}_2^{\bullet-}$, гідропероксид радикал

$\text{HO}_2^\bullet$, гідроксид–радикал $\text{HO}^\bullet$, а також його реактивні похідні – пероксид водню H_2O_2 та синглетний кисень $^1\text{O}_2$ [264] .

У фізіологічно нормальних умовах АФК постійно утворюються в клітинах водоростей як побічні продукти електронної транспортної системи (тобто в процесі фотосинтезу і мітохондріального дихання) [257]. Як відомо, активні форми кисню виконують важливі фізіологічні функції в клітинах рослин [50, 170]. Вважається, що АФК є сигнальними молекулами і регуляторами експресії генів, які кодуєть антиоксидантні ферменти, стрес–захисні та сигнальні білки та фактори транскрипції [107, 143, 189]. Разом з тим, надлишок АФК, що утворюється під дією абіотичних чинників, може викликати в клітинах рослин каскад несприятливих змін. Надзвичайно висока хімічна активність АФК дозволяє їм реагувати з різними структурними і функціональними компонентами клітин, а також метаболітами [20, 38]. Найбільш активна форма кисню – це короткоживучий надзвичайно реакційноздатний гідроксильний радикал $\text{HO}^\bullet$. Сам він навряд чи виконує сигнальну функцію оскільки час його життя становить лише 10^{-9} с, а радіус дифузії не перевищує 100 Å. Найбільш довгоживучою формою АФК є H_2O_2 , який також дуже реакційноздатний [50].

АФК можуть викликати пошкодження білків, що проявляється в окисненні -SH-груп, FeS-центрів ферментів, фрагментації пептидних ланцюгів, підвищенні чутливості білків до дії протеаз [169]. Реактивні похідні кисню здатні прямо взаємодіяти з нуклеїновими кислотами, викликаючи пошкодження азотистих основ, дезоксирибози і рибози. Однією з основних мішеней дії АФК є ліпіди – основні компоненти клітинних мембран. АФК здатні ініціювати їх пероксидне окиснення (ПОЛ) [20, 35]. До цього процесу в мембранах схильні, в першу чергу, ненасичені жирні кислоти ліпідів, при цьому швидкість утворення пероксидів різко збільшується у міру зростання ступеню ненасиченості жирних кислот [90]. В результаті активації процесів ПОЛ відбуваються перебудови структурної організації мембран, її фосфоліпідного складу, зміна текучості та йонної

проникності. Ці процеси супроводжуються зміною функціональної активності біомембран, функції мембранозв'язаних ферментів та рецепторів. Крім того, продукти ПОЛ (4-гідроксиалкени, малоновий діальдегід та ін.) характеризуються мутагенною активністю і блокують клітинний поділ [20, 62].

У відповідь на стресове збільшення АФК відбувається посилена активація антиоксидантної системи клітини, компонентами якої є специфічні ферменти та низькомолекулярні сполуки [39, 162]. Відомо, що антиоксидантні механізми захисту від АФК є ключовими для виживання водоростей в стресових умовах, а підвищення вмісту низькомолекулярних антиоксидантів та активності антиоксидантних ферментів, пов'язані з підвищенням стійкості до стресу у водоростей [148]. Вважається, що антиоксидантні ферменти відіграють важливу роль у стійкості рослин до теплового стресу [303]. До основних антиоксидантних ферментів належать супероксиддисмутаза, каталаза та ферменти аскорбат–глутатіонового циклу – аскорбатпероксидаза і глутатіонредуктаза [199, 264].

Супероксиддисмутаза (СОД) є одним з ключових ферментів антиоксидантної системи захисту, вона каталізує реакцію дисмутації супероксидного радикалу $O_2^{\bullet-}$ до O_2 і H_2O_2 , регулюючи тим самим внутрішньоклітинну концентрацію вільних радикалів кисню [88]. СОД має кілька ізоферментних форм, що відрізняються за наявністю металу–кофактору: Gn/Zn –СОД, Mn –СОД, Fe –СОД і Ni –СОД. Gn/Zn –СОД міститься в тилакоїдній мембрані і цитозолі вищих рослин, деяких дінофлагелят, а також харових водоростей [298]. У еукаріотичних водоростей Cu/Zn –СОД рідко зустрічається, вона часто замінюється Mn –СОД. Остання присутня у зелених і синьозелених водоростей у тилакоїдній мембрані [133]. Fe –СОД виявлена в хлоропластах і зустрічається як у прокаріот, так і в еукаріот. Вона була виділена, наприклад, з *Euglena gracilis* Klebs [196] і морської дінофлагеляти *Lingulodinium polyedrum* (F. Stein) J.D. Dodge [233]. Ni –СОД вперше була виявлена, клонована і охарактеризована у бактерій роду

Streptomyces. Ця форма СОД може бути активною і у синьозелених водоростей [298].

У водоростей активність СОД підвищується під впливом різних екологічних стресів, в тому числі і високої температури [228]. Було встановлено прямий зв'язок між активністю СОД і термостійкістю червоної водорості *Gracilaria lemaneiformis* (Bory de Saint-Vincent) Greville [216].

Каталаза розщеплює пероксид водню. Одна молекула ферменту здатна розкласти $6 \cdot 10^6$ молекул пероксиду водню за секунду. Каталаза характеризується низькою спорідненістю до субстрату (H_2O_2) і починає працювати тільки при досить високому його вмісті [20]. Рівень активності каталази пов'язаний також з кисневим метаболізмом. Фермент відсутній за анаеробних умов та індукується киснем. Кисень – важливий регулятор синтезу каталази, проте діє непрямым шляхом [73].

Вважають, що каталаза бере участь у захисті білків ФС II від денатурації при тепловому шоці [48]. Проте було виявлено, що синьозелена водорість *Phormidium laminosum* Gomont, що росте в гарячих джерелах при температурі 67-73 °C, не містить каталазу [247].

Важливим компонентом ферментативної антиоксидантної системи рослин є аскорбатпероксидаза. Цей фермент задіяний в детоксикації H_2O_2 в клітинах за рахунок окиснення аскорбінової кислоти. Експресія гена аскорбатпероксидази відбувається під впливом різних абіотичних стресорів: УФ-радіації, сольового стресу, низької і високої температури [155]. Відомо, що аскорбатпероксидаза відіграє важливу роль у стійкості рослин до теплового стресу [186]. У термофільної червоної водорості *Galdieria partita* O.Yu. Sentsova вона характеризується термостабільністю і зберігає свою активність при 80 °C. Встановлено, що температура плавлення рекомбінантної аскорбатпероксидази у вищих рослин становить 49 °C. Цитохром C пероксидаза з дріжджів має температуру плавлення 62 °C. Цілком можливо, що термічна стабільність аскорбатпероксидази у *G. partita* вища, ніж у цитохром C пероксидази [262].

Глутатіонредуктаза каталізує реакцію відновлення окисненого глутатіону за участю НАДФН. На думку деяких авторів, вона відіграє важливу роль в захисті рослин від високотемпературного стресу, запобігаючи окисненню ферментів і мембран [143]. Було показано, що у синьозеленої водорості *Spirulina maxima* (Setchell and N.L. Gardner) Geitler при нагріванні до 80 °C зберігається вторинна структура глутатіонредуктази, що свідчить про її термостабільність [199].

Відомо, що активність антиоксидантних ферментів може бути значно вищою у більш стійких до стресу організмів. Існує кореляція між потенціалом теплостійкості та потенційною здатністю антиоксидантних ферментів нейтралізувати АФК [49].

До антиоксидантної системи рослинних клітин належить також низькомолекулярні антиоксиданти. У літературі є дані про збільшення вмісту низькомолекулярних антиоксидантів у рослин при тепловому стресі [19, 48]. До основних низькомолекулярним антиоксидантів відносяться глутатіон, аскорбінова кислота, токоферолі та каротиноїди [113].

Основною функцією глутатіону як низькомолекулярного антиоксиданту є підтримання пулу відновленої форми аскорбату. Крім того, глутатіон захищає SH-групи білків, зберігаючи їх у відновленому стані, інактивує органічні радикали, руйнує пероксидні сполуки, бере участь в неферментативному перетворенні супероксидного аніон-радикалу в H_2O_2 [132]. Показано, що він відіграє важливу роль у підтриманні функціональної активності хлоропластів за дії високої температури [19].

Аскорбінова кислота (аскорбат) – один з найбільш стабільних низькомолекулярних антиоксидантів рослинних клітин. Аскорбат бере участь у неферментативному гасінні супероксидного аніон-радикалу ($O_2^{\cdot-}$) і гідроксильного радикалу ($HO^{\cdot}$), здійснює регенерацію радикалів токоферолу і каротиноїдів, а також є одним з субстратів аскорбат-глутатіонового циклу, в якому з залученням аскорбатпероксидази відбувається руйнування H_2O_2 [120].

Токофероли є ліпофільними антиоксидантами. Вважається, що вони присутні у всіх фототрофних організмів, за винятком деяких синьозелених водоростей [203]. Токофероли є гасниками синглетного кисню. Вони, поряд з каротиноїдами, перешкоджають фотодеструкції хлорофілу та пригнічують в клітинах вільнорадикальні реакції, зокрема, пероксидне окиснення ліпідів [113].

Каротиноїди – антиоксиданти, що знешкоджують алкоксильні і пероксидні радикали, синглетной кисень, NO-радикали та пероксинітрит. Каротиноїди є найбільш ефективними природними гасниками синглетного кисню [23]. Було показано, що під впливом високої температури вміст каротиноїдів у водоростей збільшується. Так, при підвищенні температури вирощування у клітинах *Anacystis nidulans* (Richter) Drouet & Daily зростає вміст β-каротину, кантаксантину, міксоксантофілу, 4-кетоміксоксантофілу і особливо ехіненону та глікозидів [98]. Збільшення вмісту каротиноїдів у відповідь на підвищення температури вирощування було виявлено також у таких водоростей як *Oscillatoria brevis* Kützing ex Gomont [180] та *Chlamydomonas acidophila* Negoro [171].

Незважаючи на значну кількість літератури щодо механізмів захисту водоростей від дії підвищених температур середовища існування, багато питань адаптації клітин цих організмів до зазначеного абіотичного чинника мало досліджені і потребують подальшого вивчення. Бідки теплового шоку забезпечують короткочасний захист клітин від теплового стресу, водночас мало досліджені довготривалі механізми терморезистентності рослинних організмів. У літературі немає цілісної картини про особливості метаболізму клітин нетермофільних видів водоростей в умовах впливу високих температур. Не зовсім розкриті питання ролі ключових ферментів дихального та азотного метаболізму в терморезистентності водоростей. Недостатньо досліджена також значення деяких компонентів антиоксидантної системи у термостійкості водоростей, а наявні дані досить суперечливі.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на альгологічно чистих культурах Chlorophyta (*Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew. HPDP-109; *Desmodesmus brasiliensis* (Bohl.) E. Hegewald IBASU-A 273; *Tetraedron caudatum* (Corda) Hansg. IBASU-A 277), Cyanoprokaryota (*Aphanocapsa planctonica* (G.M. Sm.) Komárek et Anagn. (= *Microcystis pulverea* (Wood) Forti emend. Elenkin) HPDP-30; *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenkin. HPDP-6; *Phormidium autumnale* (C. Agardh) Gomont f. *uncinata* (C. Agardh) N.V. Kondrat. HPDP-36; *Anabaena cylindrica* Lemmerm. HPDP-1), та фітопланктоні затоки Оболонь Канівського водосховища.

Культури водоростей вирощували на середовищі Фітцджеральда № 11 в модифікації Цендера і Горхема [67] за освітленості 3000-3500 лк (з чергуванням світлого та темного періодів 16:8) та різних температур. Культивування 2 видів зелених водоростей – *Desmodesmus communis* і *Tetraedron caudatum* та 2 видів ціанопрокаріот – *Aphanocapsa planctonica* і *Phormidium autumnale* f. *uncinata* проводили в термостаті за температур 20, 26, 32 та 38°C (з точністю підтримання температури $\pm 0,5^\circ\text{C}$). Загальна тривалість вирощування складала 28 діб. Матеріал для аналізів відбирали на 7-, 14-, 21- та 28-у доби росту водоростей.

Культури *Desmodesmus brasiliensis*, *Tetraedron caudatum*, *Microcystis aeruginosa*, *Phormidium autumnale* f. *uncinata* та *Anabaena cylindrica* піддавали короткочасному тепловому шоку шляхом нагрівання колб з водоростями на водяній бані при температурі 38 °C по 20 хв протягом трьох діб. Контролем слугували культури без теплової обробки (температура їх вирощування складала 26 °C)

Відбір проб фітопланктону здійснювали в літній сезон 2014-2015 рр. (о 9³⁰-11⁰⁰ год. ранку) в прибережній частині затоки Оболонь Канівського

водосховища під час «цвітіння» води Cyanoprokaryota у поверхневому шарі води. Глибина води на станції складала 1 м.

Визначення чисельності та біомасу фітопланктону проводили у фіксованих 40%-ним розчином формальдегіду зразках природної води [69]. Чисельність водоростей оцінювали за допомогою мікроскопа МБІ-3У42 у камері Нажотта (об'єм 0,02 см³). Біомасу фітопланктону визначали розрахунковим об'ємним методом [69].

Визначення сухої маси культур водоростей. Суспензію клітин водоростей фільтрували через попередньо висушений та зважений мембранний фільтр «Синпор» № 4 (діаметр пор 0,85 мкм) під слабким вакуумом. Культури перифітонних водоростей відділяли від поживного середовища фільтруванням через паперовий фільтр. Наважку біомаси перифітонних водоростей та фільтри з осадженими планктонними водоростями висушували у термостаті при температурі 105 °С до постійної маси й ваговим методом визначали вміст сухої речовини [67].

Визначення концентрації хлорофілу а та суми каротиноїдів проводили екстрактно-спектрофотометричним методом [265]. Для екстрагування фільтр з водоростями або наважку водоростевого матеріалу поміщали у фарфорову ступку і ретельно розтирали з додаванням кварцового піску та 90%-го ацетону. Одержаний екстракт відділяли шляхом центрифугували протягом 15 хв при 6000 тис. об/ хв. Спектрофотометрію здійснювали при довжинах хвиль 630, 647, 664 і 480 нм, що відповідають максимумам поглинання світла в 90%-ому ацетоні відповідно хлорофілів *c*, *v*, *a* та каротиноїдів. В пробах культур ціанопрокаріот, у яких присутній лише хлорофіл *a* та каротиноїди, оптичну густину екстрактів визначали при 664 і 480 нм. В пробах зелених водоростей, які містять хлорофіл *a*, хлорофіл *v* та каротиноїди оптичну густину екстрактів визначали при 647, 664 і 480 нм.

Вимірювали також неспецифічне поглинання світла екстрактом при довжині хвилі 750 нм.

Розрахунки вмісту хлорофілу *a* здійснювали відповідно до рівнянь Джефрі і Гамфрі [191]:

$$C_{\text{хл.а}} = (11,85 E_{664} - 1,54 E_{647} - 0,08 E_{630}) V_1/V_2,$$

де V_1 – об'єм екстракту, см^3 ; V_2 – об'єм профільтрованої проби, дм^3 (або наважка водоростевого матеріалу, г); E_{664} , E_{647} , E_{630} – експериментально визначені оптичні щільності екстракту на довжинах хвиль 664, 647, 630 нм.

Сумарний вміст каротиноїдів розраховували за формулою Парсонса і Стрікланда [238]:

$$\Sigma_{\text{кар}} = 10 (E_{480} - 3E_{750}) V_1/V_2 \times l,$$

де V_1 – об'єм екстракту, см^3 ; V_2 – об'єм профільтрованої проби, дм^3 (або наважка водоростевого матеріалу, г); l – товщина спектрофотометричної кювети, см; E_{480} і E_{750} – оптичні щільності екстракту на довжинах хвиль 480 і 750 нм.

Визначення концентрації фікобіліпротеїнів здійснювали спектрофотометричним методом [67]. Водорості відділяли від культурального середовища фільтруванням. Наважку водоростевого матеріалу масою 0,5-0,7 г ретельно розтирали у ступці з додаванням кварцового піску. Розтерту масу заливали невеликим об'ємом дистильованої води (5–10 мл), доведеної розчином лугу до рН 7, та поміщали на 12 год на холод для кращої екстракції пігментів. Отриманий екстракт очищали від клітинної маси центрифугуванням. Спектрофотометрію здійснювали при довжинах хвиль 650, 620 та 565, що відповідають максимумам поглинання світла с-фікоціаніном, алофікоціаніном та фікоеритрином. Концентрацію фікобілінових пігментів розраховували згідно формул [102]:

$$[\text{С-ФЕ}] = (0,003 D_{650} - 0,032 D_{620} + 0,079 D_{565}) V_1/V_2,$$

$$[\text{С-ФЦ}] = (-0,091 D_{650} + 0,166 D_{620}) V_1/V_2,$$

$$[\text{АФЦ}] = (0,159 D_{650} - 0,041 D_{620}) V_1/V_2,$$

де V_1 – об'єм екстракту, см^3 ; V_2 – наважка водоростевого матеріалу, г; D_{565} , D_{620} та D_{650} – оптичні щільності екстракту на довжинах хвиль 565, 620 і 650 нм.

Активність сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.99.1) визначали фероціанатним методом [68]. Інкубаційна суміш містила ферментну витяжку, 0,1 М калій-фосфатний буфер (рН = 7,8), 0,1 М бурштинову кислоту, 25 мМ ЕДТА, 25 мМ $K_3Fe(CN)_6$. Реакцію зупиняли внесенням 20 % розчину трихлороцтової кислоти. Спектрофотометрію здійснювали при довжині хвилі 420 нм. Активність сукцинатдегідрогенази виражали в нмоль сукцинату/мг білка·хв і розраховували за формулою:

$$A = 1000 \times m / 2 \times M \times a \times t,$$

де m – кількість відновленого фериціаніду у пробі, мкг; 2 – коефіцієнт перерахунку (1 моль сукцинату відновлює 2 моль фериціаніду); M – молекулярна маса $K_3[Fe(CN)_6]$, г/моль; a – вміст білку, мг; t — час, хв.

Активність цитохромоксидази (КФ 1.9.3.1) досліджували за методом Штрауса [280]. Інкубаційна суміш для визначення цитохромоксидази містила: ферментну витяжку, 0,2 М фосфатний буфер (рН=7,8), 0,1% розчин α -нафтолу, 0,02% розчин цитохрому c , 0,1% розчин парафенілендіамінгідрохлориду. Реакцію зупиняли додаванням ефірно-спиртової суміші (9:1), після чого інтенсивно струшували і здійснювали вимірювання на СФ-46 при довжині хвилі 540 нм. Контролем слугували проби, в які замість ферментної витяжки вносили таку ж саму кількість дистильованої води. Активність цитохромоксидази виражали в мкг індофенолу синього /мг білка за 20 хв і розраховують за формулою:

$$A = x / a \times t,$$

де x – мкг індофенолу синього; a – вміст білку, мг; t – час, 20 хв.

Активність НАДН та НАДФН-глутаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.2) оцінювали за швидкістю окиснення відповідно НАДН і НАДФН [101]. Інкубаційна суміш для визначення НАДН-глутаматдегідрогенази містила: ферментну витяжку, 50 мМ трис-НСІ буфер з рН 7,2, 0,01 М α -кетоглутарат; 0,00025 М НАДН та 0,2 М $(NH_4)_2HPO_4$. Інкубаційна суміш для визначення НАДФН-глутаматдегідрогенази містила: ферментну витяжку, 50 мМ трис-НСІ буфер з рН 8,3, 0,01 М α -кетоглутарат; 0,00025 М НАДФН та 0,2 М

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Проби фотометрували на спектрофотометрі СФ–46 при довжині хвилі 340 нм. Ферментну витяжку додавали безпосередньо у кювету і відразу ж вимірювали величину концентрації протягом 10 хв через кожні 2 хв, потім визначали різницю між першим і останнім значенням. Активність НАДН- та НАДФН глутаматдегідрогенази виражали у мкМ/моль НАДН / НАДФН в мг білку і розраховували за формулою:

$$A = \Delta e \times 0,1 / t \times 0,207 \times a,$$

де Δe – різниця значень на СФ; t – час, 10 хв; a – вміст білку, мг.

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів в біомасі водоростей досліджували за зміною вмісту основних молекулярних продуктів цього процесу – дієнових кон'югатів [103], гідропероксидів ліпідів [87] та малонового діальдегіду [104].

Активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) визначали за методом Чеварі [117]. Для визначення активності супероксиддисмутази готували 10 % гомогенат водоростей на фосфатному буфері (рН=7,4). До досліджуваного гомогенату вносили 0,15 мл хлороформу, 0,3 мл етанолу і 300 мг KH_2PO_4 . Потім проби центрифугували при 12000 об/хв протягом 15 хв. До 0,2 мл одержаного супернатанту додавали 1,3 мл 0,1 М фосфатного буферу (рН= 8,3), 1 мл розчину нітротетразолію синього, 0,3 мл розчину феназинметасульфату та 2 мл 0,2 М розчину НАДН. Після цього проби витримували 10 хв у темноті і фотометрували на спектрофотометрі СФ–46 при довжині хвилі 540 нм. Контролем слугували проби, в яких замість гомогенату водоростей вносили 0,2 мл фосфатного буферу. Активність ферменту оцінювали за його здатністю інгібувати відновлення нітротетраазолію синього.

Відсоток інгібування розраховували за формулою:

$$(\text{E}_\text{к} - \text{E}_\text{д}) \times 100 / \text{E}_\text{к},$$

де $\text{E}_\text{к}$ – екстинція контрольної проби; $\text{E}_\text{д}$ – екстинція дослідної проби. Кількість ферменту, який здатний інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, приймали за 1 ум. од. активності.

Активність каталази (КФ 1.11.1.6.) оцінювали за здатністю пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс [46]. Для визначення активності каталази готували 10 % гомогенат водоростей на 0,05 М тріс-буфері з рН 7,8. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл гомогенату до 2 мл 0,03 % розчину пероксиду водню. Паралельно готували контрольну пробу, в яку замість гомогенату водоростей вносили 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв реакцію зупиняли додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ–46 при 410 нм проти контрольної проби. Активність каталази розраховували за формулою:

$$A = (E_k - E_d) / V \times t \times k,$$

де А – активність каталази; E_k , E_d – екстинція контрольної і дослідної проб; t – час інкубації, с; K – коефіцієнт молярної екстинції пероксиду водню, який дорівнює $22,2 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Активність глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) визначали за методом Моїна [74]. Гомогенати водоростей готували розтиранням сирової маси у фарфоровій ступці з додаванням кварцового піску. До 0,3 мл приготовленого гомогенату додавали 0,5 мл 0,25 М тріс-буферу (рН = 7,4), 0,1 мл 25 мМ ЕДТА, 0,1 мл 0,4 М азиду натрію та 70 мкл гідропероксиду третинного бутилу. Реакцію зупиняли додаванням 0,4 мл 10%-ної ТХО. Проби центрифугували 10 хв при 8000 об./хв. В пробірки, які містили 5 мл тріс-буферу вносили 0,1 мл супернатанту і додавали 100 мкл реактиву Елмана. Через 5 хв вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 412 нм. Активність ГПО розраховують за формулою:

$$A = (E_k - E_d) / 11,4/5 \times C,$$

де С – кількість внесеного білка; E_k – екстинція контрольної проби; E_d – екстинція дослідної проби.

Загальний вміст білків в біомасі водоростей визначали за методом Лоурі [240]. В пробірки вносили по 0,1 мл приготовленої ферментної витяжки і доводили її до 1 мл дистильованою водою. Потім до неї додавали

4 мл суміші розчинів А та Б. Для приготування розчину А змішували 2 % р-н Na_2CO_3 та 0,1 N р-н NaOH. Для приготування розчину Б змішували 0,5 % р-н $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ та 1 % р-н $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$. Після внесення розчину А+Б проби інкубували протягом 10 хв. Потім додавали 0,4 мл розведеного реактиву Фоліна. Через 30 хв розчин фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 750 нм. Контролем слугували проби, в які замість ферментної витяжки вносили 1 мл дистильованої води. Вміст білків у пробах визначали за калібрувальною кривою і виражали в мг.

Загальний вміст ліпідів в біомасі водоростей визначали тест-методом (Lachema, Чехія) після хлороформ-метанолової екстракції [201]

Вміст розчинених неорганічних сполук азоту та фосфору в пробах природної води визначали за загальноприйнятими в гідрохімії методами досліджень [69].

Статистична обробка даних проводилася із застосуванням програм MS Excel та STATISTICA 6.0.

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ РІЗНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ ТА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ПРЕДСТАВНИКІВ CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA

3.1. Динаміка сухої маси культур Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температур

Різноманітність реакцій рослин, у тому числі і водоростей, на вплив абіотичних та біотичних чинників середовища лежить в основі їх пристосування до умов існування і виявляється не лише у структурних (анатомо-морфологічних), але й функціональних (фізіолого-біохімічних) адаптаційних перебудовах. Цим обумовлені зміни інтенсивності та спрямування усіх процесів життєдіяльності, серед яких ріст є інтегральним показником [75, 41]. Як відомо, температура – один із найважливіших абіотичних чинників середовища, що регулює ріст та розвиток водоростей [138, 147, 266, 273, 285].

На рис. 3.1.1 представлені результати дослідження впливу різних температур культурального середовища – 20, 26, 32 та 38 °C на інтенсивність росту (за змінами сухої маси) зеленої мікроводорості *D. communis*. Максимальні величини її сухої маси відмічалися за найнижчої із досліджуваних температур (20 °C). На 7-у добу росту культури за цієї температури суха маса складала 180 мг/дм³, на 14-у – 356 мг/дм³, 21-у – 440 мг/дм³, та на 28-у добу – 535 мг/дм³. Слід відмітити, що коефіцієнт приросту сухої маси *D. communis* також був максимальним за температури 20 °C (табл. 3.1.1). Це свідчить про те, що такі температурні умови є найбільш сприятливими для її росту.

За температури 26 °C порівняно з 20 °C величини сухої маси протягом усього періоду культивування були меншими у 1,2-1,4 рази, що вказує на

незначне пригнічення ростових процесів у мікрowodорості. Встановлено, що температура 32 °С мала більш згубний вплив на накопичення біомаси культурою *D. communis*, ніж температура 26 °С. Протягом усього періоду досліджень за вказаних температурних умов її суха маса була меншою від зареєстрованої при 20 °С у 1,3-1,8 рази.

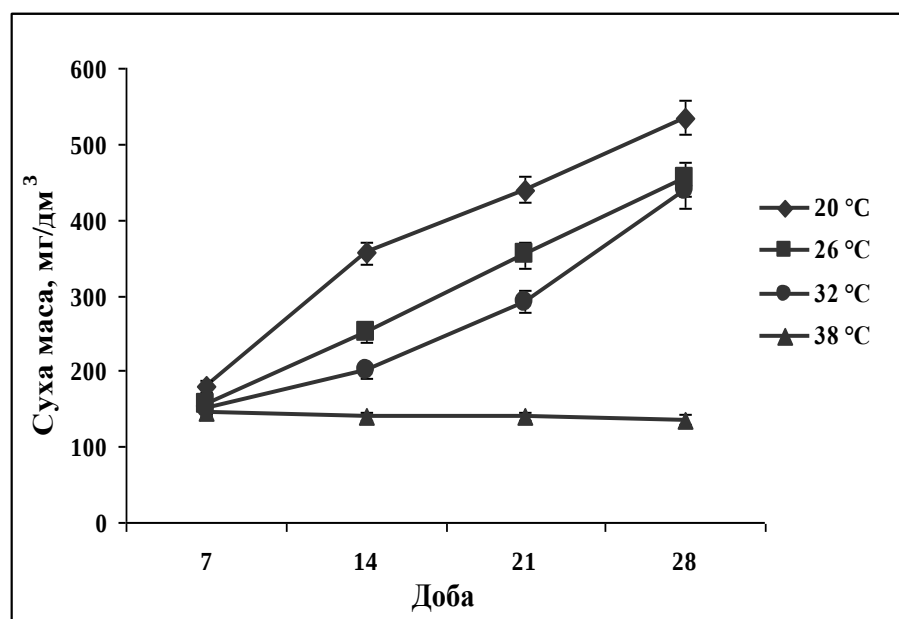


Рис. 3.1.1. Зміни сухої маси культури *Desmodesmus communis* за різних температур вирощування.

За температури 38 °С значення досліджуваного показника були мінімальними і спостерігалась тенденція значного інгібування росту *D. communis*. На 7-у добу культивування за найвищої температури порівняно з 20 °С значення сухої маса водорості були нижчими в 1,3 рази, на 14-у добу – в 2,5 рази, а на 21-у і 28-у доби – в 3,1 та 3,9 рази відповідно. Слід відмітити, що одержані нами результати узгоджуються із дослідженнями С.С. Заргара і співавторів, які показали, що за екстремально високої температури (39 °С) відбувається значне інгібування ростових процесів у *Scenedesmus quadricauda* (= *D. communis*) [302].

У іншого представника Chlorohyta – *T. caudatum*, як і у *D. communis*, за 20 °С реєструвалися максимальні величини досліджуваного показника росту

(рис. 3.1.2). На 7-у добу культивування за цього температурного режиму суха маса мікроводорості складала 135 мг/дм³, на 14-у – 290 мг/дм³, 21-у – 345 мг/дм³, та на 28-у добу – 497 мг/дм³. У відповідь на збільшення температури вирощування з 20 °С до 26 °С протягом усього періоду досліджень вона знижувалася. При цьому, якщо на 7-у та 14-у доби росту за температури 26 °С суха маса культури *T. caudatum* була меншою від зареєстрованої за температури 20 °С у 1,7 та 2,5 рази відповідно, то на 21-у і 28-у доби – лише у 1,3 та 1,2 рази відповідно, що свідчить про її здатність адаптуватися до таких умов.

Таблиця. 3.1.1.

**Приріст сухої маси мікроводоростей
за різних температур**

Культура	Коефіцієнт приросту сухої маси			
	20 °С	26 °С	32 °С	38 °С
<i>D. communis</i>	0,070±0,013	0,060±0,007	0,046±0,003	0,000±0,000
<i>T. caudatum</i>	0,080±0,015	0,066±0,009	0,043±0,005	0,000±0,000
<i>Aph. planctonica</i>	0,056±0,008	0,070±0,008	0,062±0,009	0,000±0,000

Встановлено, що за температур 32 та 38 °С протягом усього періоду культивування спостерігалось істотне гальмування росту *T. caudatum* (див. рис. 3.1.2, табл. 3.1.1). Слід відмітити, що у цього представника Chlorophyta, порівняно з *D. communis*, за вказаних температур зміни сухої маси були значно більшими. За температури 32 °С у *T. caudatum* суха маса була меншою, ніж при 20 °С у 1,5-2,9 рази, а за температури 38 °С – у 1,8-6,5 рази. Отже, досліджувана мікроводорість є більш чутливою до високих температур, ніж *D. communis*. Відомо, що для кожного виду водоростей

характерний свій температурний інтервал існування, обумовлений генетичними та фізіологічними чинниками [259, 285].

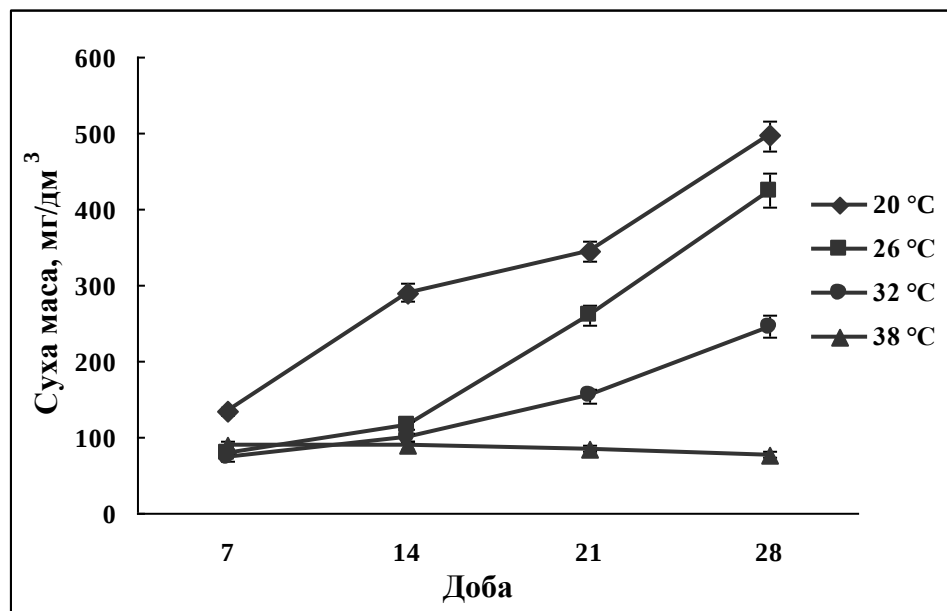


Рис. 3.1.2. Зміни сухої маси культури *Tetraedron caudatum* за різних температур вирощування.

В літературі є відомості про те, що оптимальна температура росту водоростей може також змінюватись в залежності від умов середовища існування [248]. Показано, що у *Dunaliella tertiolecta* Butcher у відповідь на підвищення концентрації натрію хлориду в культуральному середовищі від 0,125 до 1,5 М оптимальна температура росту збільшилася на 6 °C [165]. Виявлено, що водорість *Tetraselmis* sp., вирощена на середовищі, близькому до природного, на відміну від вирощеної на середовищі, збагаченому поживними речовинами, характеризувалася більш низьким температурним оптимумом [219]. Встановлено, що оптимальна температура росту водоростей також суттєво змінюється в залежності від інтенсивності освітлення [261]. Отже температурні межі існування різних видів водоростей визначаються генетичними, фізіологічними та екологічними чинниками.

Результати проведених досліджень свідчать, що у ціанопрокаріоти *Aph. planctonica*, на відміну від зелених водоростей, в умовах впливу 26 °C

порівняно з 20 °С значення ростових показників були вищими (рис. 3.1.3, табл. 3.1.1). На 7-у добу культивування за цієї температури її суха маса була більшою відносно зареєстрованої за 20 °С у 1,2 рази, на 14-у – у 1,3 рази, на 21- та 28-у доби – у 1,4 та 1,2 рази відповідно. Це свідчить про те, що за вищої із досліджуваних температур у культури спостерігалось стимулювання ростових процесів.

Встановлено, що за температури 32 °С ціанопрокаріта накопичувала більшу біомасу, ніж за температур 20 та 26 °С. Значення вказаного показника в умовах впливу цього температурного режиму були вищими у 1,4-2,3 і 1,1-1,8 від зареєстрованих відповідно за 20 та 26 °С. Одержані результати свідчать, що *Aph. planctonica* пристосована до існування за більш високих температур, ніж досліджені зелені мікроводорості.

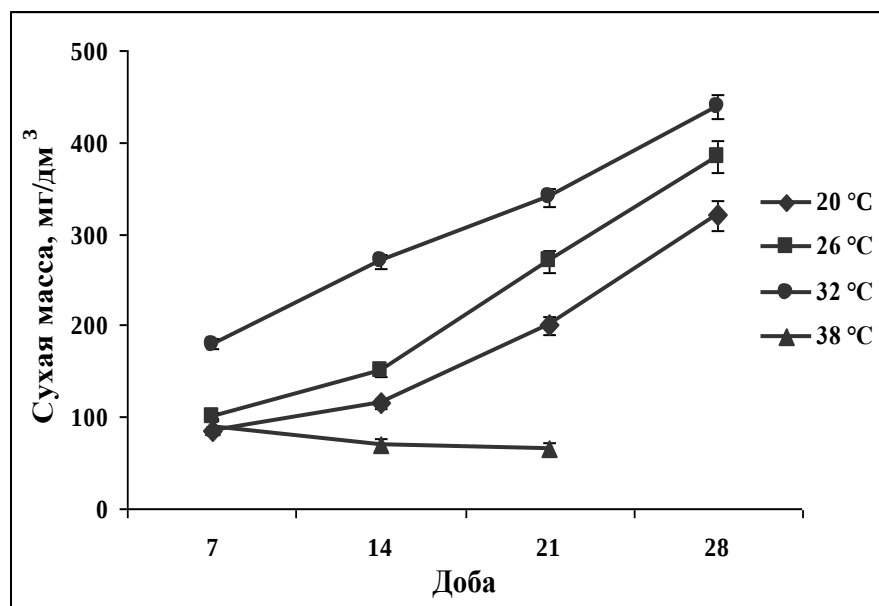


Рис. 3.1.3. Зміни сухої маси культури *Aphanocapsa planctonica* за різних температур вирощування.

В літературі є відомості про те, що серед представників Суанопрокаріот багато термофільних видів. Вони успішно розвиваються за температури 75–80 °С і навіть вище. Відомо, що основними мешканцями гарячих джерел, гейзерів, вулканічних озер та водойм-охолоджувачів є саме

ціанопрокаріоти [30, 33, 80, 81, 82]. Крім представників *Cyanoprokaryota*, у великій кількості в гарячих водах зустрічаються також представники *Bacillariophyta* та *Chlorophyta*, однак вони менш термофільні, і мешкають по окраїнах водойм у більш холодних ділянках. Температурний поріг, при якому живуть діатомові та зелені водорості, як правило не перевищує 50 °C [80].

Проведені дослідження свідчать, що за екстремально високої температури (38 °C) порівняно з іншими досліджуваними (20, 26, та 32 °C) величина сухої маси культури *Aph. planctonica*, як і *D. communis* та *T. caudatum*, була мінімальною. Це свідчить про те, що за температурних умов, які виходять за межі оптимальних, відбувалося істотне гальмування росту всіх водоростей. Важливо відмітити, що аналогічні закономірності були отримані іншими авторами [252, 261, 285]. Показано, що у культур тропічних австралійських мікроводоростей *Cryptomonas* sp. CRFI01 Ehrenberg, *Rhodomonas* sp. NT15 G. Karsten та неідентифікованої *Prymnesiophyta* NT19 зі збільшенням температури середовища в межах від 25 до 30 °C швидкість росту зростала, але за температури понад 30 °C вона істотно знижувалася [252]. Така ж сама картина спостерігалася у морської мікроводорості *Nannochloropsis oceanica* Suda & Miyashita, яку вирощували в діапазоні температур 14,5–35,7 °C. З підвищенням температури культурального середовища від 14,5 до 29 °C швидкість росту збільшувалася, пік її реєструвався в діапазоні 25–29 °C. Проте за температур 32,4 та 35,7 °C величина цього показника помітно знижувалася [261].

3.2. Зміни вмісту хлорофілу *a* та каротиноїдів у біомасі культур *Chlorophyta* та *Cyanoprokaryota* за різних температур

Одним із найбільш чутливих процесів, що протікають у водоростевих клітинах, до коливань температури навколишнього середовища є фотосинтез [284]. Реакція–відповідь фотосинтетичного апарату на вплив несприятливих чинників розвивається досить швидко і розглядається як один з етапів першої

фази неспецифічного адаптаційного синдрому рослин [18, 108]. Як відомо, обов'язковим компонентом фотосинтетичного апарату водоростей є пігментний комплекс, до якого входять хлорофіли, каротиноїди та фікобіліпротеїни [258]. Абіотичні стресори викликають зміни вмісту та співвідношення цих пігментів у водоростей. Такі зміни розглядаються як біологічний маркер їх фізіологічного стану [47, 116].

3.2.1. Динаміка вмісту хлорофілу *a*

Вміст хлорофілу *a* є важливим фізіологічним параметром, який характеризує функціональну активність фотосинтетичного апарату рослин та їх реакцію на вплив несприятливих чинників середовища [63, 107]. Проведені експериментальні дослідження показали, що найвищий вміст цього пігменту у біомасі зеленої мікроводорості *D. communis* реєструвався за температури 20 °C (рис. 3.2.1.1). Це вказує на те, що її фотосинтетичний потенціал в умовах впливу вказаного температурного режиму культурального середовища, порівняно з іншими досліджуваними (26, 32 та 38 °C) був найвищим.

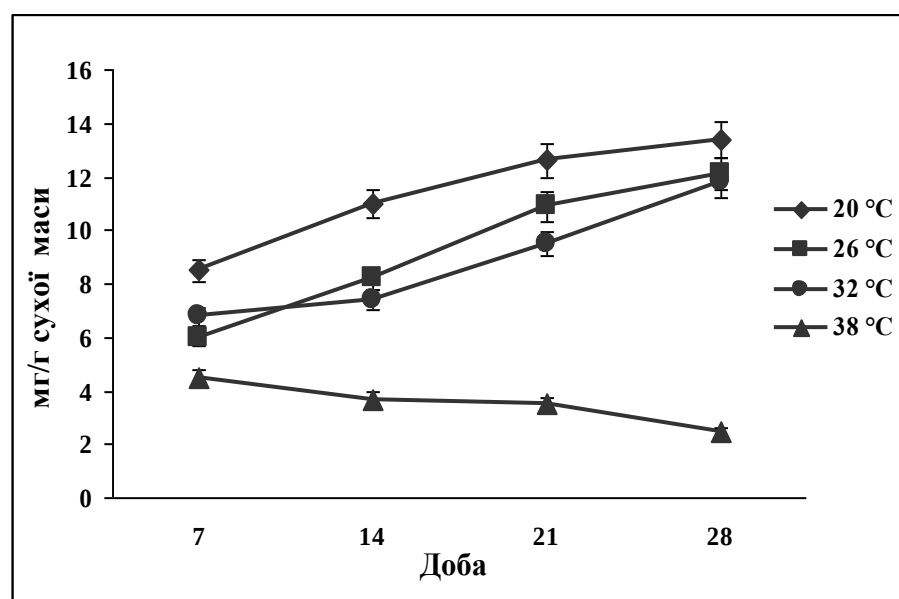


Рис. 3.2.1.1. Динаміка вмісту хлорофілу *a* у біомасі культури *Desmodesmus communis* за різних температур.

За температури 26 °С на 7-у та 14-у доби росту *D. communis* концентрація хлорофілу *a* була нижчою, ніж за 20 °С у 1,3 та 1,4 рази відповідно, а на 21-у та 28-у добу – лише у 1,2 рази. Отже у старшої за віком культури порівняно з молодшою зміни досліджуваного показника в умовах підвищеної температури були меншими.

Встановлено, що за температурного режиму 32 °С вміст хлорофілу *a*, був близьким до того, що відмічався при 26 °С. Разом з тим, в умовах впливу температури 38 °С значення цього показника стрімко падали, і були нижчі, порівняно із зареєстрованими як за 20 °С, так і 26 та 32 °С. Важливо відзначити, в умовах впливу екстремально високої температури вміст хлорофілу *a* у *D. communis* зменшувався у більшій мірі, ніж суха маса. На наш погляд, однією з причин цього може бути те, що в умовах, несприятливих для фотосинтезу, водорості можуть переходити на гетеротрофний тип живлення [51, 58, 65].

Одержані результати свідчать, що у біомасі *T. caudatum*, як і у *D. communis*, зі збільшенням температури вирощування з 20 до 26, 32 та 38 °С спостерігалось зниження концентрації хлорофілу *a*. За температури 26 °С порівняно з 20 °С на 7-у добу культивування мікроводорості величина досліджуваного показника була меншою у 1,4 рази, на 14-у добу – у 1,3 рази, а на 21-у та 28-у – 1,2 рази (рис. 3.2.1.2). За температури 32 °С зниження вмісту хлорофілу *a* у *T. caudatum* було істотнішим, особливо у старшої за віком культури. Зменшення вмісту хлорофілу *a* свідчить про пригнічення фотосинтетичної активності водорості, оскільки цей пігмент є основним компонентом світлозбирального комплексу хлоропластів [114].

В умовах впливу екстремально високої температури (38 °С) концентрація хлорофілу *a* в біомасі культури була мінімальною. Показано, що на 7-у добу її росту за цих умов значення вказаного показника були меншими від зареєстрованих за 20 °С у 2,7 рази, тоді як на 14-, 21- і 28-у добу – у 3,6, 4,5 та 6,4 рази відповідно. Отже деструктивний вплив

екстремально високої температури на фотосинтетичний апарат зі збільшенням віку культури та тривалості дії температури посилювався.

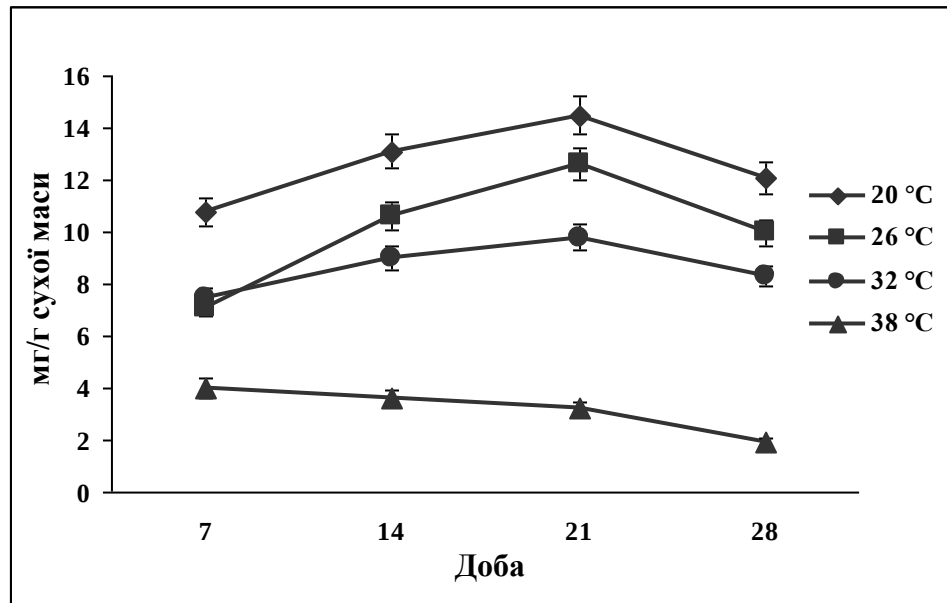


Рис. 3.2.1.2. Динаміка вмісту хлорофілу *a* у біомасі культури *Tetraedron caudatum* за різних температур.

Слід зауважити, що відмічене нами зменшення концентрації хлорофілу *a* у зелених водоростей за дії підвищених температур культурального середовища може свідчити з одного боку про пригнічення біосинтезу цього пігменту, а з іншого – про прискорення його розпаду. Згідно з відомостями літератури, однією з можливих причин зниження вмісту хлорофілу *a* в умовах впливу різних стресових чинників, у тому числі і теплового, є інгібування активності ферментів, що відповідають за його біосинтез, зокрема дегідратази δ -амінолевулінової кислоти і протохлорофілід редуктази [270]. Дегідратаза δ -амінолевулінової кислоти бере участь у біосинтезі хлорофілу на початковій стадії. За участю цього ферменту відбувається конденсація двох молекул δ -амінолевулінової кислоти з утворенням монопіролу – порфобіліногену. Протохлорофілід редуктаза – фермент завершального етапу біосинтезу хлорофілу, що каталізує перетворення протохлорофіліду в хлорофіл *a* [235].

Проведені дослідження засвідчують, що у ціанопрокаріоти *Aph. planctonica* за температур 26 та 32 °C спостерігалася протилежна картина зміни концентрації основного фотосинтетичного пігменту, ніж у зелених водоростей. Протягом усього періоду культивування *Aph. planctonica* за вказаних температурних режимів вміст хлорофілу *a*, в розрахунку на суху масу водорості, був вищим, ніж при 20 °C (рис. 3.2.1.3).

Збільшення вмісту хлорофілу слід розглядати не як просте його накопичення, а як переважання синтезу над деградацією. Відомо, що процеси утворення й руйнування зелених пігментів пов'язані із загальним метаболізмом водоростевого організму [97].

Слід відзначити, що за температури 32 °C на 7-у та 14-у доби росту культури вміст хлорофілу *a* був дещо більшим від зареєстрованого за 26 °C, тоді як на 21-у та 28-у доби – меншим. Це свідчить про те, що зі збільшенням віку культури та тривалості впливу досліджуваної температури активність її фотосинтетичного апарату знижувалася.

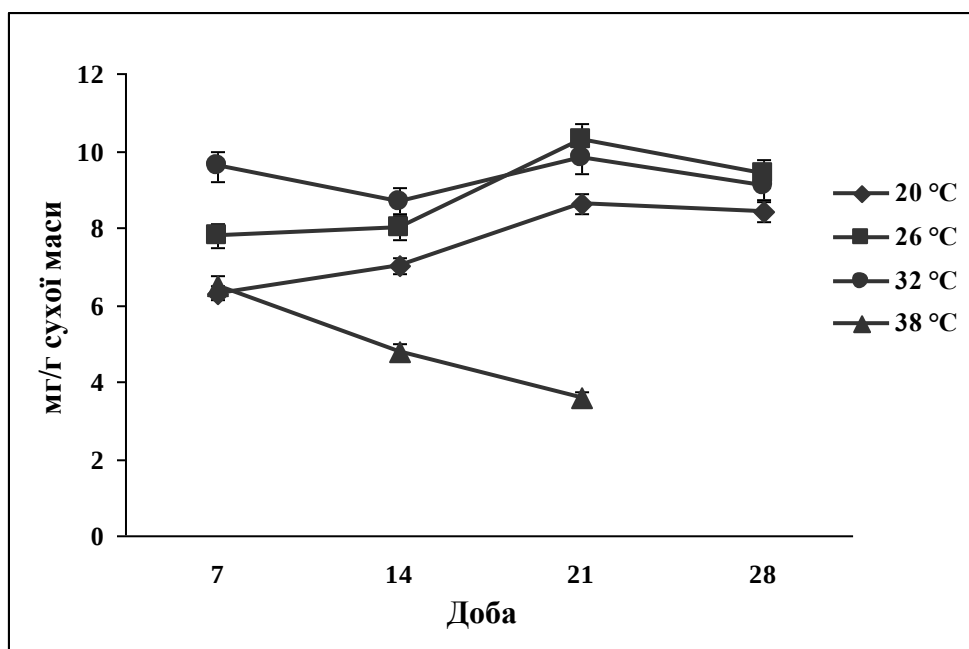


Рис. 3.2.1.3. Динаміка вмісту хлорофілу *a* у біомасі культури *Aphanocapsa planctonica* за різних температур.

Встановлено, що за екстремально високої температури (38 °C) концентрація пігменту в біомасі цього представника Cyanoprokaryota, як і у обох видів Chlorohyta, протягом усього періоду досліджень була мінімальною. Величина зазначеного показника на 7-у добу росту культури за цієї температури була меншою, ніж за 26 °C у 1,2, а на 14-у, та 21-у доби – у 1,7 та 2,9 рази відповідно (рис. 3.2.1.3). Оскільки тривалий вплив екстремально високої температури привів до знебарвлення суспензії і лізису клітин водорості, то на 28-у добу вміст фотосинтетичних пігментів та суху масу у *Aphanocapsa planctonica* ми не визначали.

Важливо відмітити той факт, що лабораторний штам основного збудника «цвітіння» води *Microcystis aeruginosa* (як і *Aphanocapsa planctonica*), за літературними даними, теж дуже чутливий до температури. Він має максимальну швидкість розмноження при 27–28 °C. Але вже при підвищенні температури на декілька градусів вказаний показник починає знижуватися [253].

У *Ph. autumnale* f. *uncinata* за впливу досліджуваних температурних режимів спостерігалася подібна динаміка вмісту хлорофілу *a* в сухій масі, як у *Aph. planctonica*. При вирощуванні цього представника Cyanoprokaryota за температури 26 °C порівняно з 20 °C величина вказаного показника була більшою у 1,2-1,4 рази (рис. 3.2.1.4). Відмічений факт свідчить про те, що функціональна активність його фотосинтетичного апарату за цих температурних умов була вищою.

Встановлено, що температура 32 °C також позитивно впливала на біосинтез хлорофілу *a* у *Ph. autumnale* f. *uncinata*, про що свідчить збільшення його вмісту в біомасі культури. За 38 °C вміст хлорофілу *a* у досліджуваної ціанопрокаріоти був мінімальним. На 7-у добу її росту за цих умов величина показника зменшилася порівняно із зареєстрованою за 26 °C у 1,2 рази, на 14-у – у 1,3 рази, а на 21- та 28-у – у 1,5 рази.

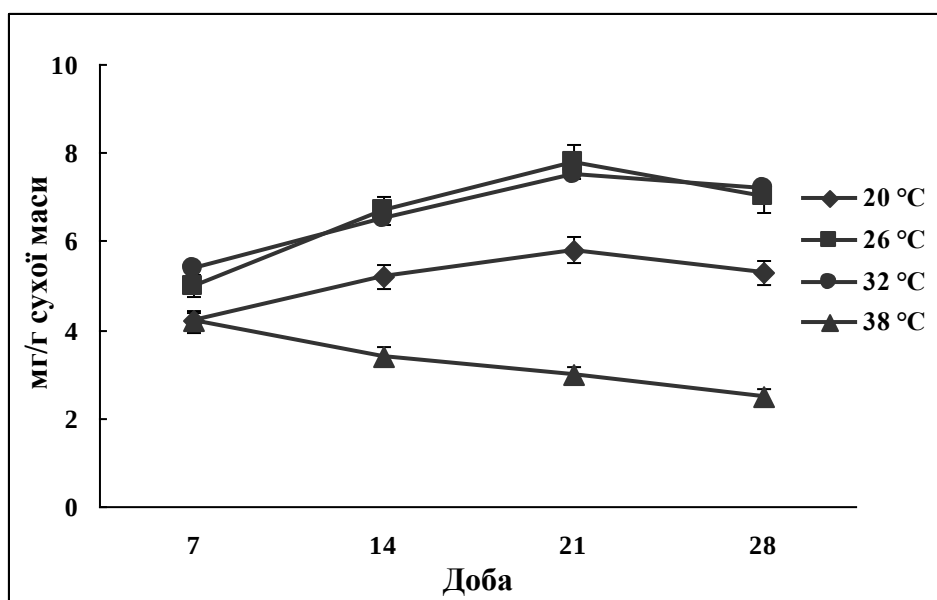


Рис. 3.2.1.4. Динаміка вмісту хлорофілу *a* у біомасі культури *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за різних температур.

Звертає на себе увагу той факт, що за екстремально високої температури зміни концентрації хлорофілу *a* в сухій масі *Ph. autumnale* f. *uncinata* були значно меншими, ніж у *Aph. planctonica* і обох культур зелених водоростей. Виходячи з отриманих результатів, можна стверджувати, що *Ph. autumnale* f. *uncinata* найменш чутливий до дії високих температур. Ймовірно це є причиною домінування цього виду в перифітоні дніпровських водосховищ в літній сезон [124]. Крім того, *Ph. autumnale* f. *uncinata* зустрічається у водоймах-охолоджувачах, де він зазнає впливу високих температур [123].

3.2.2. Динаміка сумарного вмісту каротиноїдів

Поряд із хлорофілом *a*, каротиноїди є обов'язковим компонентом фотосинтетичних систем усіх водоростей [283]. Виділяють дві основних групи каротиноїдів: каротини та їх кисневмісні похідні – ксантофіли. Поглинаючи світлові хвилі в синьо-зеленій області спектру і передаючи поглинену енергію хлорофілу *a*, ксантофіли

виконують світлозбиральну функцію, тоді як каротини виконують захисну функцію: вони здатні «гасити» надлишкову енергію триплетних станів хлорофілу та синглетного кисню [17, 76].

Відомо, що зміни кількості сумарних каротиноїдів відображають адаптивні властивості клітин водоростей та їх здатність пристосовуватися до умов середовища існування [26]. Аналіз одержаних результатів свідчить, що у представників Chlorophyta – *D. communis* та *T. caudatum* за температури 26 °C, протягом усього періоду культивування водоростей, сумарна концентрація каротиноїдів або практично не відрізнялася від зареєстрованої за температури 20 °C, або була вищою (рис. 3.2.2.1).

Якщо враховувати, що концентрація хлорофілу *a* в сухій масі мікрowodоростей за температури 26 °C порівняно із зареєстрованою за 20 °C, навпаки, зменшується (рис. 3.2.1.1, 3.2.1.2). Підвищення концентрації каротиноїдів при цьому свідчить про погіршення фізіологічного стану водоростей [208]. Вважають, що каротиноїди є більш стабільним компонентом пігментної системи, ніж хлорофіл *a* [31].

У відповідь на зміну температури вирощування з 20 °C до 32 °C у біомасі обох зелених мікрowodоростей також спостерігалось підвищення сумарного вмісту жовтих пігментів. При цьому у *T. caudatum* ці зміни були більшими, ніж у *D. communis*. У *T. caudatum* протягом усього періоду культивування за температури 32 °C порівняно з 20 °C значення вказаного показника були вищими на 23-73 %, а у *D. communis* – на 17-56 % (рис. 3.2.2.1).

Зростання синтезу каротиноїдів у водоростей при підвищенні температури середовища, як правило, пов'язують із захисною реакцією-відповіддю їх клітин на надмірне утворення активних кисневих метаболітів [193]. Каротиноїди, як низькомолекулярні компоненти антиоксидантної системи, є ефективними «гасниками» синглетного кисню. Одна молекула β -каротину конвертує 200-1000 молекул синглетного кисню. Крім того,

каротиноїди здатні інактивувати супероксидний аніон-радикал та пероксид водню [100].

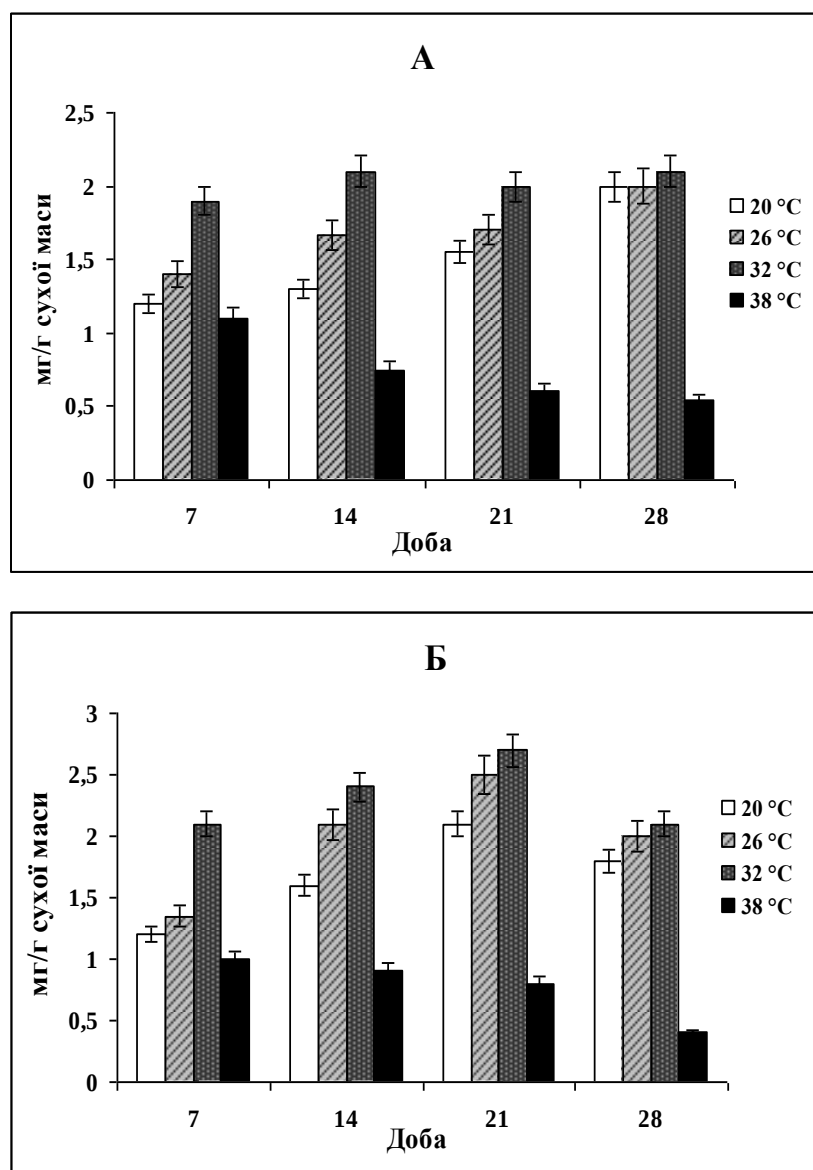


Рис. 3.2.2.1. Зміни сумарного вмісту каротиноїдів у біомасі зелених мікроводоростей за різних температур: А – *Desmodesmus communis*; Б – *Tetraedron caudatum*.

За екстремально високої температури (38 °C) відмічалось істотне пригнічення накопичення жовтих пігментів у зелених мікроводоростей, про що свідчить динаміка їх вмісту у сухій масі. На ранній експоненціальній фазі росту (7-а доба) *D. communis* в умовах впливу досліджуваного

температурного режиму сумарна концентрація каротиноїдів була меншою від зареєстрованої при 20 °C лише на 10 %. Разом з тим зі збільшенням віку культури та тривалості впливу температури величина цього показника змінювалася значно істотніше (знижувалася на 73-243 %). Така ж сама тенденція спостерігалася і у *T. caudatum*. Встановлено, що на 7-у добу росту цієї культури за температури 38 °C, порівняно з 20 °C, вміст каротиноїдів був меншим на 20 %, тоді як на 14-у, 21-у та 28-у доби – на 76, 163 та 350 % відповідно. Отже, згубний вплив досліджуваних температурних умов на біосинтез допоміжних фотосинтетичних пігментів у старших за віком культур *Chlorophyta* був більш виражений.

На рис. 3.2.2.2 представлені результати дослідження впливу різних температурних режимів культивування на накопичення каротиноїдів у біомасі представників *Cyanoprokaryota*. Як бачимо, у *Aph. planctonica* протягом усього періоду вирощування за температури 20 °C величина вказаного показника була меншою, ніж за температури 26 °C на 8–16 %. Слід відмітити, це узгоджується із отриманими нами даними щодо змін вмісту хлорофілу *a* і свідчить про деяке пригнічення біосинтезу фотосинтетичних пігментів у ціанопрокаріоти за нижчої із досліджуваних температур. У *Ph. autumnale* f. *uncinata* в умовах впливу вказаного температурного режиму спостерігалася подібна картина змін сумарного вмісту каротиноїдів. На 7-у та 14-доби росту культури за температури 20 °C порівняно з 26 °C концентрація цих пігментів була меншою на 13 та 10 %, а на 21- та 28-у доби – на 15 та 18 % відповідно.

Встановлено, що за температури 32 °C у біомасі *Aph. planctonica* протягом досліджуваного періоду реєструвався вищий вміст жовтих пігментів, ніж при 20 та 26 °C. Це свідчить про посилення біосинтезу каротиноїдів у клітинах ціанопрокаріоти в цих умовах. У *Ph. autumnale* f. *uncinata* у відповідь на збільшення температури вирощування до 32 °C, також, спостерігалася збільшення значень вказаного показника протягом усього періоду досліджень. Проте слід відмітити, що за температури 32 °C

порівняно з 26 °С, сумарна концентрація каротиноїдів у біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* була вищою лише на 7-у та 14-у добу (у експоненціальній фазі росту культури), тоді як на 21-у та 28-у добу (з виходом її на стаціонарну фазу росту) величини цього показника залишалися практично на одному рівні.

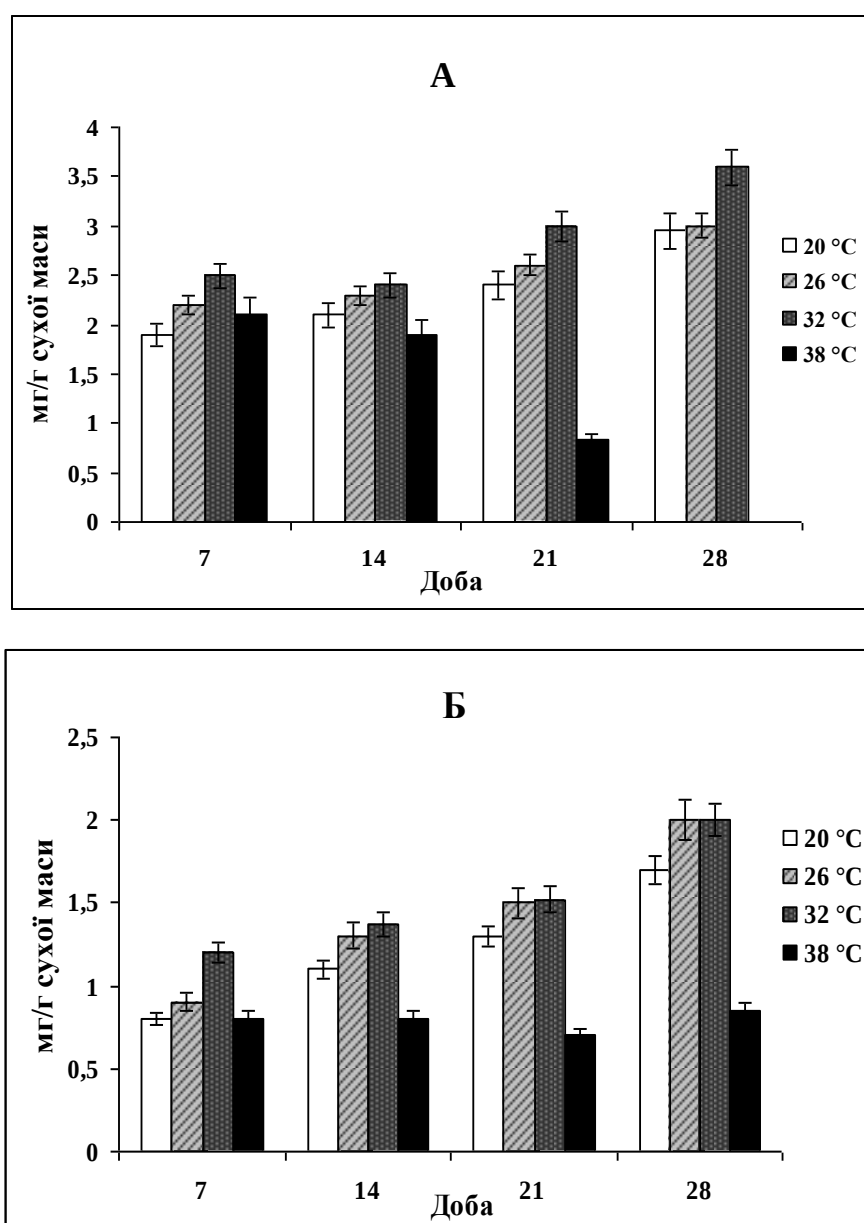


Рис. 3.2.2.2. Зміни сумарного вмісту каротиноїдів у біомасі ціанопрокаріот за різних температур: А – *Aphanocapsa planctonica*; Б – *Phormidium autumnale* f. *uncinata*.

За екстремально високої температури (38 °C) відмічалася вірогідне пригнічення накопичення жовтих пігментів у обох досліджуваних культур ціанопрокаріот. У *Aph. planctonica* на 7-у та 14-у добу культивування в умовах цієї температури сумарна концентрація каротиноїдів була меншою від зареєстрованої за 26 °C на 15 та 25 %, тоді як на 21-добу – на 213 %. У *Ph. autumnale* f. *uncinata* на 7-у, та 14-у доби культивування за температури 38 °C порівняно з 26 °C значення вказаного показника був нижчий на 13 та 63 % відповідно, а на 21-у та 28-у доби – на 114 та 135 % відповідно.

Слід зауважити, що в умовах впливу екстремально високої температури концентрація жовтих пігментів в біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* зменшується менш істотно, ніж у обох зелених водоростей та ціанопрокаріоти *Aph. planctonica*. Як вже зазначалося вище, зниження вмісту хлорофілу *a* у *Ph. autumnale* f. *uncinata* при температурі 38 °C також нижче, ніж у інших досліджуваних видів водоростей. Це свідчить про те, що цей вид Cyanoprokaryota характеризується найменшою чутливістю до дії екстремально високої температури.

Як відомо, важливим показником рівня функціональної активності водоростей є відношення сумарного вмісту каротиноїдів до хлорофілу *a* ($\Sigma\text{кар.}/\text{хл. } a$) [57, 110]. Низькі значення цього показника вважаються індикатором фізіологічного благополуччя водоростей, тобто свідчить про високу фотосинтетичну активність їх клітин, тоді як високі, навпаки, відображають пригнічений (або неактивний) стан. За несприятливих умов в першу чергу руйнується хлорофіл *a*. Це супроводжується накопиченням більш стійких до руйнування каротиноїдів. Відповідно, співвідношення суми каротиноїдів до хлорофілу *a* в умовах впливу стресових чинників буде збільшуватися [11, 57].

Встановлено, що у *D. communis* та *T. caudatum* мінімальні значення відношення $\Sigma\text{кар.}/\text{хл. } a$ реєструвалися за температури 20 °C (табл. 3.2.2.1). Зі збільшенням температури вирощування культур на кожні 6 °C величина цього показника зростала і була максимальною за впливу екстремально

високої температури. Відмічений факт свідчить про зниження функціональної активності зелених водоростей за підвищення температури.

Таблиця 3.2.2.1.

Співвідношення суми каротиноїдів до хлорофілу *a*
у зелених водоростей за різних температур

Культура	Співвідношення $\Sigma \text{кар} / \text{хл. } a$			
	20 °C	26 °C	32 °C	38 °C
<i>D.communis</i>	$\frac{0,13 - 0,17}{0,15}$	$\frac{0,17 - 0,26}{0,22}$	$\frac{0,18 - 0,32}{0,25}$	$\frac{0,18 - 0,32}{0,25}$
<i>T.caudatum</i>	$\frac{0,11 - 0,15}{0,13}$	$\frac{0,11 - 0,15}{0,13}$	$\frac{0,24 - 0,26}{0,25}$	$\frac{0,26 - 0,32}{0,29}$

У культур *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* мінімальні значення відношення $\Sigma \text{кар} / \text{хл. } a$ реєструвалися за температури 26 °C (табл. 3.2.2.2), що в свою чергу, свідчить про найвищу фотосинтетичну активність ціанопрокаріот за цих умов.

Таблиця 3.2.2.2.

Співвідношення суми каротиноїдів до хлорофілу *a*
у ціанопрокаріот за різних температур

Культура	Співвідношення $\Sigma \text{кар} / \text{хл. } a$			
	20 °C	26 °C	32 °C	38 °C
<i>Aph. planctonica</i>	$\frac{0,28 - 0,35}{0,32}$	$\frac{0,24 - 0,31}{0,28}$	$\frac{0,26 - 0,39}{0,33}$	$\frac{0,32 - 0,41}{0,37}$
<i>Ph. autumnale</i> f. <i>uncinata</i>	$\frac{0,21 - 0,32}{0,27}$	$\frac{0,18 - 0,27}{0,23}$	$\frac{0,20 - 0,27}{0,24}$	$\frac{0,22 - 0,34}{0,28}$

Встановлено, що у *Ph. autumnale* f. *uncinata* за температур 20 та 38 °C відмічалися максимальні величини співвідношення $\Sigma\text{кар}/\text{хл. } a$, тоді як за температури 32 °C рівень досліджуваного показника був близьким до зареєстрованого за 26 °C. Натомість у *Aph. planctonica* співвідношення $\Sigma\text{кар}/\text{хл. } a$ характеризувалося високими значеннями не лише за 20 та 38 °C, але й за 32 °C, що вказує на те, що в умовах впливу цих температур порівняно з 26 °C функціонування фотосинтетичного апарату було пригнічене.

3.3. Вплив температурного чинника на вміст хлорофілу *a* та каротиноїдів у фітопланктоні (на прикладі затоки Оболонь Канівського водосховища)

Вміст основного фотосинтетичного пігменту зелених рослин – хлорофілу *a* вважається універсальним еколого-фізіологічним показником, який відображає рясність та фотосинтетичну активність фітопланктону [70]. За концентрацією хлорофілу *a* визначають ступінь трофності водойм, їх екологічний стан, величину первинної продукції та оцінюють біомасу планктонних водоростей [70, 109].

Відносний вміст хлорофілу *a* у біомасі фітопланктону (Хл. *a*/Б) залежить від багатьох чинників: світлового режиму, температури води, забезпеченості біогенними речовинами, видового складу, величини біомаси, розмірів клітин водоростей, фізіологічного стану популяцій, сезону року, часу доби тощо [56, 71, 72, 109]. Однак даних щодо змін вмісту хлорофілу *a* в одиниці біомасу фітопланктону за дії абіотичних та біотичних чинників у водоймах різної трофності і різної зональності в літературі недостатньо. Це ускладнює оцінку біомаси фітопланктону за концентрацією хлорофілу *a*. Водночас «хлорофільний метод» визначення біомаси планктонних водоростей через його простоту та експресність має багато переваг перед альгологічним методом розрахунку біомаси планктонних водоростей.

При моделюванні залежності вмісту хлорофілу *a* в одиниці біомаси фітопланктону необхідні натурні дані щодо впливу абіотичних та біотичних чинників на величину відношення Хл.*a* /Б. З перерахованих вище чинників найменш досліджено вплив температури на варіабельність цього показника. Разом з тим, враховуючи кліматичні зміни та пов'язане з ними потепління клімату, що проявляється у збільшенні середніх та максимальних температур води, суттєвий інтерес становило дослідити, як змінюється відношення Хл. *a* /Б за цих умов в літній сезон – пік вегетації фітопланктону.

3.3.1. Характеристика абіотичних чинників

Одержані результати свідчать, що величина освітленості в період наших досліджень (липень-початок вересня) змінювалася у межах – 30–61 тис лк (табл. 3.3.1.1), що очевидно пов'язано із відбором проб води в один і той же час (лише вранці).

За період спостережень температура води на досліджуваній ділянці змінювалася від 21 °С до 31 °С. Максимальні її значення реєструвалися в серпні 2014 р, а мінімальні – на початку вересня 2014 р.

Вміст розчиненого неорганічного фосфору у воді прибережної ділянки затоки Оболонь коливався в межах 0,020–0,097 мг Р/дм³, складаючи в середньому 0,044±0,006 мг Р/дм³. За літературними даними [213] вміст загального фосфору у воді вище 0,030 мг Р/дм³ характерний для евтрофних водойм. Отже, за показниками розчиненого неорганічного фосфору прибережну ділянку затоки Оболонь в літній сезон можна віднести до евтрофних вод.

Із форм розчиненого неорганічного азоту переважав амонійний азот. Його концентрація у період наших досліджень знаходилась у межах 0,260–1,210 мгN/дм³. Кількість нітратного азоту у воді затоки була нижчою і складала 0,014–0,220 мг N/дм³, що, очевидно, пов'язано з активним споживанням його планктонними організмами, в першу чергу,

мікроводоростями та макрофітами. Межі коливань нітритного азоту становили: 0–0,032 мг N/дм³.

Таблиця 3.3.1.1.

**Деякі абіотичні чинники точки спостережень прибережної ділянки
затоки Оболонь Канівського водосховища**

Дата відбору	Т, °С	Освітленість, тис. Лк	PO ₄ ³⁻ , мг P/дм ³	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	ΣN
				мг N/дм ³			
1.08.14	28,5	51	0,035	0,003	0,014	0,505	0,522
5.08.14	28,0	54	0,027	0,003	0,025	0,480	0,508
6.08.14	28,0	44	0,027	0,003	0,047	0,645	0,695
7.08.14	28,0	39	0,027	0,003	0,024	0,425	0,452
8.08.14	29,5	47	0,062	0,000	0,036	0,635	0,671
11.08.14	31,0	61	0,057	0,003	0,173	0,455	0,631
21.08.14	26,0	43	0,092	0,032	0,030	0,455	0,517
09.09.14	21,0	34	0,097	0,005	0,021	0,450	0,476
11.09.14	22,5	31	0,025	0,008	0,018	1,210	1,236
29.07.15	25,0	57	0,030	0,012	0,160	0,310	0,482
30.07.15	23,5	30	0,020	0,009	0,220	0,260	0,489
6.08.15	28,0	47	0,040	0,006	0,103	0,370	0,479
11.08.15	29,0	56	0,040	0,009	0,190	0,450	0,649
17.08.15	26,0	60	0,040	0,006	0,103	0,610	0,719
18.08.15	24,0	61	0,045	0,010	0,125	0,750	0,885

Загалом сумарний вміст у воді сполук розчиненого неорганічного азоту коливався у період наших спостережень від 0,452 до 1,236 мг N/дм³, складаючи в середньому 0,627±0,054 мг N/дм³. Враховуючи, що загальний вміст азоту у воді вище 0,50 мг/дм³ характерний для евтрофних водойм [213], у літній сезон води прибережної ділянки затоки Оболонь навіть за концентраціями розчиненого неорганічного азоту, як і фосфору, відноситься до евтрофних вод.

3.3.2. Фітопланктон прибережної ділянки затоки Оболонь

Одержані результати показали, що в період досліджень у прибережній мілководній ділянці затоки Оболонь Канівського водосховища спостерігалось інтенсивне «цвітіння» води представниками Ціанопрокариот (табл. 3.3.2.1). Їх біомаса складала 86–99,8 % від загальної біомаси фітопланктону. В пробах домінували основні збудники «цвітіння» води – *Anabaena flos-aquae* Bréb., *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. і *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs.

За температури води 28–31 °C у фітопланктоні переважно домінувала *An. flos-aquae*. Її внесок у загальну біомасу ціанопрокариот в інтервалі вказаних температур складав 28,8–91,3 %. Натомість, найбільший процент домінування за біомасою основного збудника «цвітіння» води *M. aeruginosa* відмічався за нижчих температур: 21, 23,5 та 25 °C (74,2%, 39,7% та 33,3 % відповідно від сумарної біомаси ціанопрокариот).

Максимальна біомаса *Aph. flos-aquae* реєструвалася як за помірних температур: 24 °C та 26 °C (90,6 % та 67,5 % відповідно від загальної біомаси ціанопрокариот), так і за екстремально високої температури – 29 °C (59,9%). Це свідчить про те, що *Aph. flos-aquae* характеризується меншою чутливістю до високих температур, ніж *M. aeruginosa*. Варто зауважити, що результати наших досліджень узгоджуються з дослідженнями інших авторів, які показали, що в затоці Оболонь Канівського водосховища при екстремально високих температурах (вище 27 °C) переважали види: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae* и *Microcystis pulverea* (Wood) Forti emend. Elenkin (= *Aphanocapsa planctonica* (G.M. Sm.) Komárek et Anagn) [125].

Домінанти і субдомінанти затоки Оболонь Канівського водосховища в літній сезон 2014-2015 рр

Дата	T, °C	Домінуючий відділ	% домінування	Домінанти	% домінування	Субдомінанти	% домінування
1.08.14	28,5	Цянопроکاریота	94,3	<i>An.flos-aquae</i> <i>M. aeruginosa</i>	<u>71,0*</u> 75,3 <u>18,5</u> 26,0	—	—
5.08.14	28,0	Цянопроکاریота	86,0	<i>An.flos-aquae</i> <i>M.aeruginosa</i>	<u>60,2</u> 69,9 <u>16,8</u> 19,5	—	—
6.08.14	28,0	Цянопроکاریота	97,9	<i>An. flos-aquae</i>	<u>88,0</u> 89,9	<i>A.affinis</i>	<u>7,9</u> 3,2
7.08.14	28,0	Цянопроکاریота	99,5	<i>An. flos-aquae</i>	<u>82,4</u> 82,9	<i>M. aerugi-nosa</i> <i>A. affinis</i>	<u>8,6</u> 8,65 <u>7,6</u> 7,65
8.08.14	29,5	Цянопроکاریота	99,4	<i>An. flos-aquae</i>	<u>90,8</u> 91,3	—	—
11.08.14	31,0	Цянопроکاریота		<i>An. flos-aquae</i>	<u>93,0</u> 93,5		

1	2	3	4	5	6	7	8
9.09.14	21,0	Cyanoprokaryota	96,65	<i>M. aeruginosa</i> <i>M. wesenbergii</i> <i>A. affinis</i>	<u>72,65</u> 74,2 <u>12,1</u> 12,4 <u>11,9</u> 12,1		–
29.07.15	25,0	Cyanoprokaryota	94,6	<i>M. aeruginosa</i> <i>An. flos-aquae</i> <i>Aph. flos-aquae</i>	<u>37,6</u> 39,7 <u>33,2</u> 33,1 <u>23,0</u> 24,3		–
30.07.15	23,5	Cyanoprokaryota	99,4	<i>Aph. flos-aquae</i> <i>An. flos-aquae</i> <i>M. aeruginosa</i>	<u>36,5</u> 36,7 <u>35,6</u> 36,9 <u>26,5</u> 26,7	–	–
6.08.15	28,0	Cyanoprokaryota	95,1	<i>An. flos-aquae</i> <i>M. aeruginosa</i>	<u>46,85</u> 49,2 <u>31,7</u> 33,3	<i>Aph.flos-aqua</i>	<u>8,9</u> 9,3

1	2	3	4	5	6	7	8
11.08.15	29,0	Cyanoprokaryota	99,3	<i>Aph. flos-aquae</i> <i>An. flos-aquae</i> <i>M. aeruginosa</i>	<u>59,5</u> 59,9 <u>28,6</u> 28,8 <u>10,5</u> 10,6	—	—
17.08.15	26,0	Cyanoprokaryota	99,2	<i>Aph. flos-aquae</i> <i>An. flos-aquae</i>	<u>66,7</u> 67,5 <u>27,0</u> 27,2	—	—
18.08.15	24,0	Cyanoprokaryota	99,8	<i>An. flos-aquae</i>	<u>90,6</u> 90,6	<i>An. flos-aqua</i>	<u>7,0</u> 7,0

Примітка:

Домінанти – види, біомаса яких становила понад 10% від загальної, субдомінанти - 5% від загальної;

* У чисельнику – відсоток домінування виду у загальній біомасі, в знаменнику - у біомасі домінуючого відділу; прочерк - субдомінанти не виявлено.

3.3.3. Зв'язок між вмістом фотосинтетичних пігментів і біомасою фітопланктону

Вміст хлорофілу *a* в одиниці об'єму води досліджуваної ділянки затоки Оболонь Канівського водосховища змінювалося від 64 до 1630 мкг/дм³, а біомаса фітопланктону – від 6,9 до 151,9 мг/дм³. Екстремально високі значення вказаних показників пов'язані з інтенсивним «цвітінням» води видами *Cyanoprokaryota*.

Між величиною біомаси та вмістом хлорофілу *a* нами встановлена пряма лінійна залежність (рис. 3.3.3.1) з високим коефіцієнтом детермінації ($R^2 = 0,89$), що пояснюється, очевидно, досить однорідним фітопланктоном (абсолютне домінуванням ціанопрокаріот), відбором зразків вранці (приблизно в один і той же часовий проміжок) та внаслідок цього досить стабільними умовами освітленості.

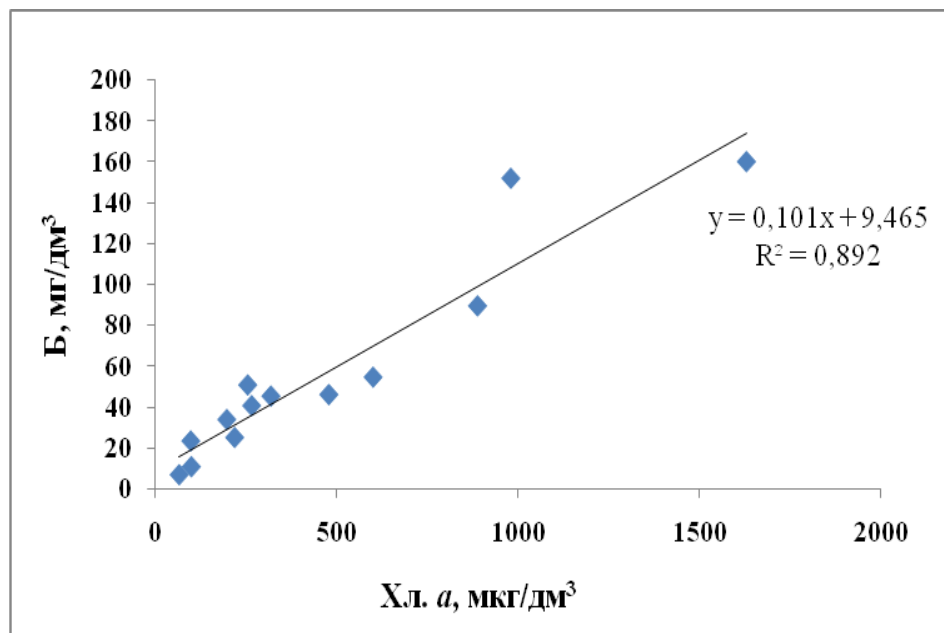


Рис. 3.3.3.1. Зв'язок між вмістом хлорофілу *a* та біомасою фітопланктону в прибережній ділянці затоки Оболонь Канівського водосховища.

Лінійна залежність між концентрацією хлорофілу *a* фітопланктону та біомасою отримана для багатьох прісноводних водойм [71], хоча в деяких випадках вона краще описується параболічною кривою [44].

3.3.4. Залежність вмісту фотосинтетичних пігментів фітопланктону від абіотичних чинників

Концентрація хлорофілу *a* в одиниці біомаси фітопланктону прибережної ділянки Оболонської затоки Канівського водосховища в період наших досліджень змінювалася від 0,41% до 1,1 % , і в середньому складала 0,79 %. Ця величина співставна з результатами інших авторів, що проводили дослідження в затоках Кременчуцького водосховищах (0,43%) під час «цвітіння» води Cyanoprokaryota [55].

Як відомо, величина співвідношення Хл. *a*/Б значно варіює в залежності від освітленості. При підвищених рівнях світлової радіації відбувається фотоокиснення хлорофілу в клітинах водоростей, що призводить до зниження його вмісту в одиниці біомаси фітопланктону [181].

Із даних, наведених у табл. 3.3.4.1, видно, що зв'язок вмісту хлорофілу *a* у біомасі фітопланктону (Хл.*a* /Б) з освітленістю при «цвітінні» води представниками Cyanoprokaryota був дуже слабким ($r = -0,18$) та не вірогідним. Це пояснюється тим, що в один і той же часовий проміжок (зранку) освітленість коливалась в невеликих межах. Тому вона не суттєво впливала на відносний вміст хлорофілу у біомасі планктонних водоростей.

Відомо, що відношення Хл. *a*/Б залежить від вмісту у воді біогенних сполук, і змінюється у водоймах різної трофності. Показники концентрації хлорофілу *a* в одиниці сирової біомаси фітопланктону вищі в евтрофних водоймах порівняно з оліготрофними та мезотрофними [70]. Тому суттєвий інтерес становило проаналізувати зв'язок цього показника з вмістом у воді розчинених неорганічних сполук азоту та фосфору.

Таблиця 3.3.4.1.

**Коефіцієнти кореляції між вмістом хлорофілу *a* у біомасі фітопланктону
при «цвітінні води» *Cyanoprokaryota* та деякими
абіотичними чинниками.**

Показники	<i>R</i>	<i>n</i>	<i>P</i>
Освітленість	–0,18	13	> 0,05
Температура води	–0,80	13	<0,01
NO ₃ [–]	0,24	13	> 0,05
NH ₄ ⁺	–0,18	13	> 0,05
Σрозчин. неорг. азоту	–0,17	13	> 0,05
PO ₄ ^{3–}	0,00	13	> 0,05
N/P	–0,25	13	> 0,05

Одержані результати показали, що кореляція між вмістом хлорофілу *a* в одиниці сирової біомаси та концентрацією амонійного, нітратного та сумарного неорганічного азоту ($r = -0,18$; 0,24 та $-0,17$, відповідно) не вірогідна (табл. 3.3.4.1).

Зв'язок між величиною співвідношення Хл. *a*/Б та концентрацією розчиненого неорганічного фосфору у воді в період наших досліджень також не виявлено ($r = 0,00$). Одержані результати свідчать, що азот та фосфор у літній сезону в Канівському водосховищі не лімітували розвиток фітопланктону, що узгоджується із результатами досліджень інших авторів [126]. Крім того, розраховане нами відношення розчиненого неорганічного азоту до фосфору у воді (N/P) у 75 % випадків знаходилося в межах близьких до оптимальних для розвитку фітопланктону (10,8–18,8). Кореляція між

вмістом хлорофілу в одиниці сирової біомаси та величиною N/P виявилася не достовірною (див. табл. 3.3.4.1).

Із досліджених абіотичних факторів найбільш тісна кореляція встановлена між вмістом хлорофілу *a* в одиниці біомаси фітопланктону і температурою води ($r = -0,80$; $P < 0,01$).

В діапазоні температур 21–31° С між показником Хл *a*/Б та температурою води спостерігалась обернена залежність, тобто зі збільшенням температури води відносний вміст хлорофілу *a* в біомасі зменшується (рис. 3.3.4.1).

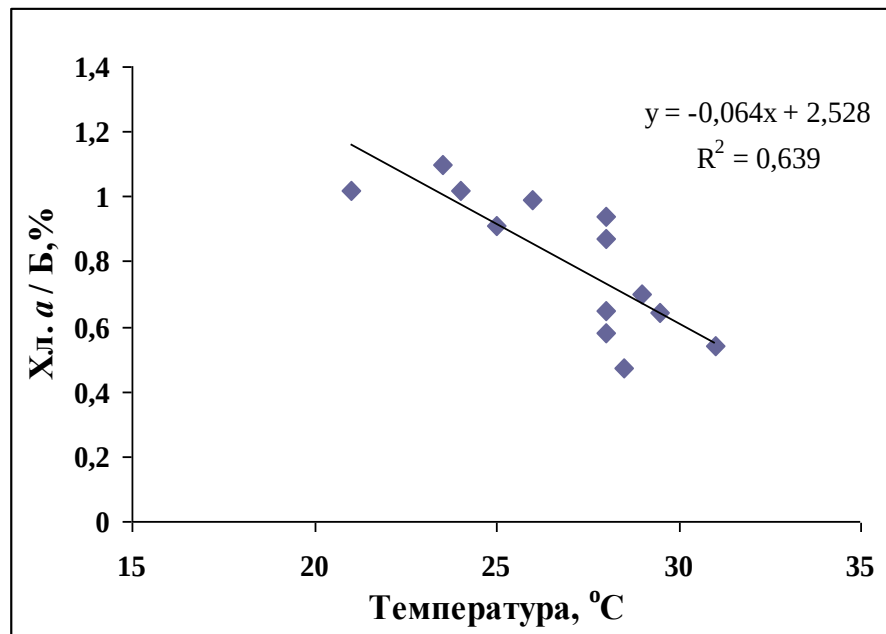


Рис. 3.3.4.1. Залежність між вмістом хлорофілу *a* в біомасі фітопланктону та температурою води у літній сезон 2014-2015рр. в прибережній ділянці затоки Оболонь Канівського водосховища

Причиною цього може бути як пригнічення синтезу хлорофілу *a*, так і його деградація за високих температур. Розрахунки за отриманим рівнянням регресії показують, що зі збільшенням температури води з 21°С до 31°С вміст хлорофілу у біомасі фітопланктону зменшується в 2 рази.

Важливо відмітити, що в культурах *Cyanoprokaryota* за температури 32 °C ми спостерігали не зменшення, а навіть деяке збільшення показника Хл. *a*/Б, і стрімке падіння його величини було відмічено за значно вищої температури – 38°C. Це свідчить про те, що в природних умовах ефект зменшення вмісту хлорофілу зі збільшенням температури води спостерігається при нижчих температурах, ніж в умовах культур. Причиною цього може бути те, що освітленість в природних умовах (30–61 тис. лк в ранкові часи) значно вища, ніж в умовах культур (3–3,5 тис. лк). Очевидно, при високій інсоляції, порівняно з низькою, екстремально високі температури більш істотно пригнічують синтез хлорофілу *a* і сприяють його деградації.

Враховуючи той факт, що між первинною продукцією та вмістом хлорофілу *a* в планктоні існує пряма кореляція, можна припустити, що первинна продукція за екстремально високих температур також буде зменшуватися, і підвищиться роль гетеротрофних шляхів енергозабезпечення ціанопрокаріот.

При інтенсивному «цвітінні» води ціанопрокаріотами кількість розчиненої органічної речовини у воді (РОР) суттєво збільшується [93]. Показано, що незважаючи на те, що основним джерелом отримання енергії водоростями є фотосинтез, вони здатні активно споживати РОР, в першу чергу низькомолекулярні сполуки [51, 92, 93]. Аналіз гетеротрофної активності фітопланктону в водоймах різної трофності і в лабораторних експериментах показав важливе значення гетеротрофного метаболізму водоростей. Висока гетеротрофна активність фітопланктона визначається переважно споживанням низькомолекулярних органічних сполук (до 60–80% спожитого фіто- та бактеріопланктоном цих РОР), в той час як високомолекулярні сполуки на 2/3 споживаються бактеріопланктоном [92]. Наразі виділені бактеріями в середовище ферменти гідролізують високомолекулярні РОР, що дає можливість споживати продукти гідролізу всім гідробіонтам, в тому числі і водоростям [92].

Як відомо, каротиноїди відіграють у клітинах водоростей не лише важливу роль у фотосинтезі, але виконують також захисну функцію, запобігаючи руйнуванню хлорофілу за несприятливих умов [84]. Тому цікаво було дослідити зміни сумарного вмісту каротиноїдів в одиниці біомаси фітопланктону за різних температур. Отримані результати показали, що в межах температур 21–26 °С величина цього показника суттєво не змінювалася (рис. 3.3.4.2).

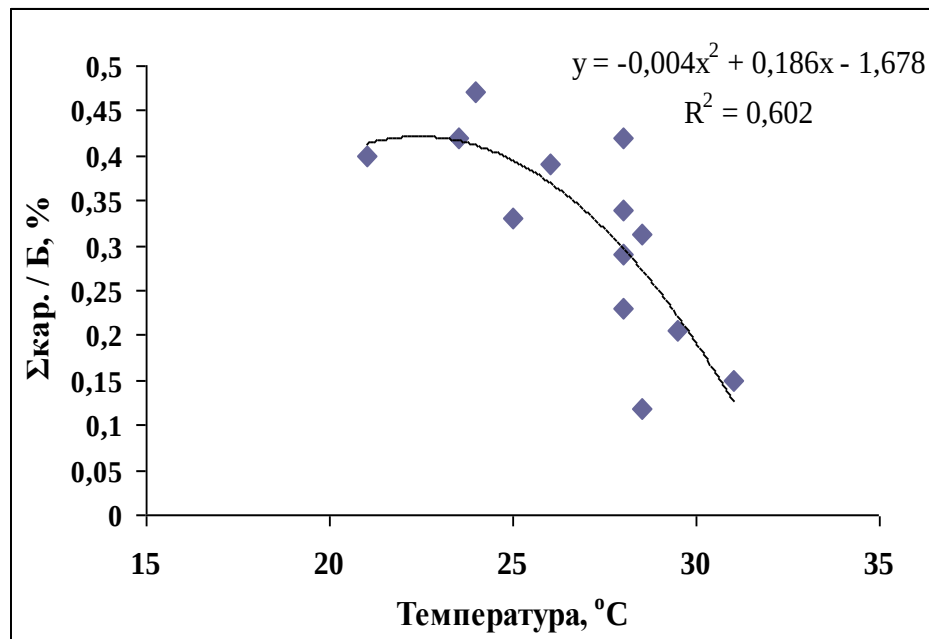


Рис. 3.3.4.2. Залежність між сумарним вмістом каротиноїдів в біомасі фітопланктону (%) та температурою води у літній сезон 2014–2015рр. в прибережній ділянці затоки Оболонь Канівського водосховища

За температури вище 28 °С спостерігалось помітне зниження сумарного вмісту каротиноїдів у біомасі водоростей, і він був мінімальним при 28,5; 29,5 та 31,0 °С. Отже, проведені дослідження засвідчують, що у типовому для Канівського водосховища у літній сезон фітопланктоні за екстремально високих температур зменшується не лише вміст хлорофілу *a* в одиниці його біомасі, але і сумарний вміст каротиноїдів. Однак це зниження в природних умовах для каротиноїдів, як і хлорофілу *a*, спостерігається за нижчих температур, ніж в культурах ціанопрокаріот. У проведених експериментах на культурах зелених водоростей і ціанопрокаріот показано,

що у відповідь на зміну температурного режиму культивування з 26 на 32 °C у них було зафіксовано збільшення сумарного вмісту каротиноїдів. Разом з тим за найвищої температури (38 °C) у досліджуваних видів Chlorophyta і Cyanoprokaryota спостерігалось стрімке падіння сумарної концентрації жовтих пігментів у сухій масі відносно значень, зафіксованих як за температури 32 °C, так і 26 °C.

Слід відмітити, що на відміну від хлорофілу *a*, залежність вмісту суми каротоїдів в одиниці біомаси від температури описується не лінійною, а поліноміальною функцією.

3.4. Вплив температури та сумісна дія різних абіотичних чинників на вміст фікобіліпротеїнів у біомасі Cyanoprokaryota

Характерною особливістю представників Cyanoprokaryota є наявність в їх фотосинтетичному апараті, крім хлорофілу *a* та каротиноїдів, фікобілінових пігментів (або фікобіліпротеїнів) – с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну. Основною функцією цих пігментів є поглинання та передача енергії світла хлорофілу *a*. Їхні смуги поглинання перекривають спектральну область 490-660 нм, в якій інші фотосинтетичні пігменти малоефективні [27, 61, 135]. Cyanoprokaryota містять велику кількість фікобілінових пігментів, які мають білкову природу і складають до 40-60% маси всіх водорозчинних білків. Однак їх вміст та співвідношення сильно варіює у різних видів водоростей і залежить від зовнішніх чинників середовища [61]. Важливо відзначити, що інтерес до дослідження фікобіліпротеїнів обумовлений також їх практичним значенням. Фікоціаніни і фікоеритрини займають провідне положення на ринку природних барвників. Роль цих речовин зростає у зв'язку з використанням їх у медицині (при діагностиці ракових захворювань), а також в фармакології та харчовій промисловості [198].

Згідно одержаних даних, за температури 20 °C у *Ph. autumnale* f. *uncinata* на 14-ту добу росту вміст С-ФЕ складав 1,6 мг/г с. м., С-ФЦ – 2,7 мг/г с. м., та АФЦ – 3,2 мг/г с. м (рис. 3.4.1А). Разом з тим на 28-му добу за цих умов культивування концентрація вказаних фікобіліпротеїнів у біомасі ціанопрокаріоти була меншою на 33, 35 та 78 % відповідно (рис.3.4.1Б). Отже, зі збільшенням віку культури вміст фікобілінових пігментів в біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* за 20 °C зменшувався.

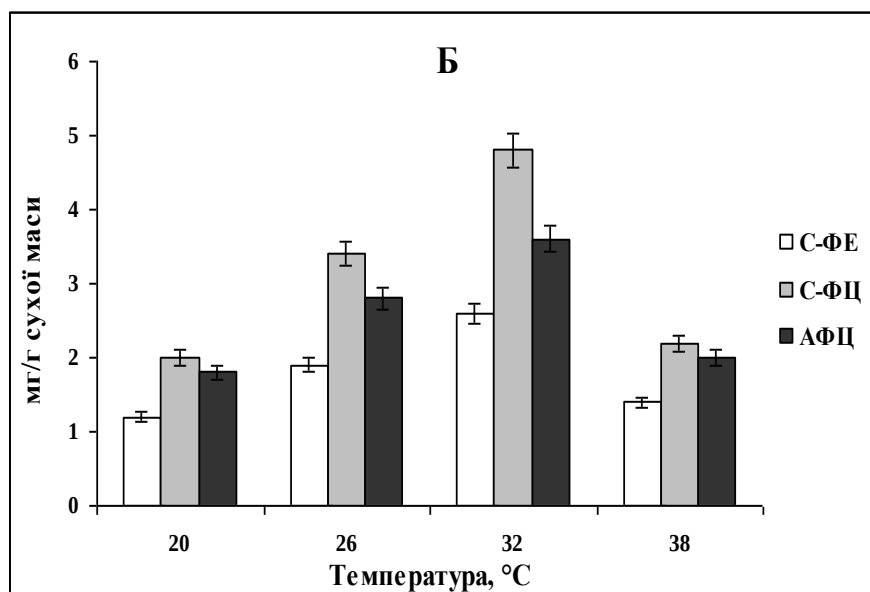
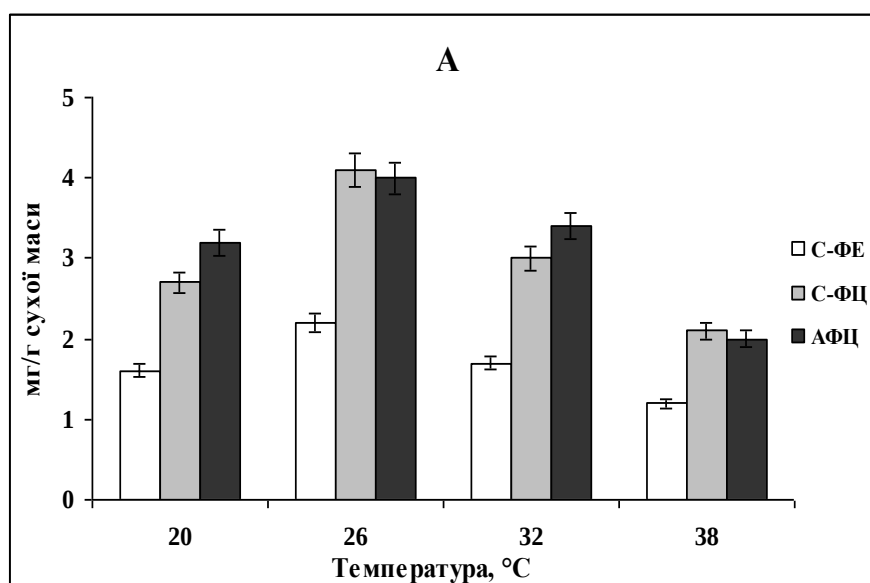


Рис. 3.4.1. Зміни вмісту фікобіліпротейнів у біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* за впливу різних температур: А – 14-а доба культивування; Б – 28-а доба

Аналогічна тенденція спостерігалася і при вирощуванні досліджуваного виду *Cyanoprokaryota* за температури 26 °С. Проте, в умовах впливу даного температурного режиму порівняно з 20 °С було відмічено вірогідне збільшення концентрації фікобіліпротейнів, як на 14-ту, так і на 28-му добу росту культури. Так, вміст С-ФЕ за 26 °С порівняно з 20 °С на 14-ту добу культивування зріс у 1,4 рази, а С-ФЦ та АФЦ у 1,5 і 1,3 рази відповідно. На 28-у добу росту культури за цих температурних умов було відмічене більш суттєве підвищення вмісту цих пігментів: С-ФЕ та АФЦ – у 1,6 рази, а С-ФЦ – у 1,7 рази щодо значень, зафіксованих за 20 °С. Значне зростання концентрації фікобілінових пігментів в біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* за впливу температури 26 °С порівняно з 20 °С, на нашу думку, можна пояснити тим, що остання не є оптимальною температурою для росту досліджуваної ціанопрокаріоти. Слід відмітити, що вміст інших фотосинтетичних пігментів – хлорофілу *a* та каротиноїдів за вищої із досліджуваних температур був також більшим.

За температури 32 °С на експоненціальній фазі росту культури водорості вміст фікобіліпротейнів наближався до значень, що були зафіксовані за 20 °С, проте був нижчим, ніж за 26 °С. У відповідь на дію досліджуваного температурного режиму порівняно з 26 °С концентрація С-ФЕ була меншою у 1,3 рази, а фікоціанінів – С-ФЦ та АФЦ – у 1,2 рази, що очевидно, обумовлено або зниженням синтезу цих пігментів, або їх руйнуванням.

В літературі є відомості про те, що за дії несприятливих чинників середовища у ціанопрокаріот відбувається руйнування фікобіліпротейнів, яке супроводжується вивільненням незамінних амінокислот для синтезу білка, що, в свою чергу, є необхідним для підтримання метаболічної активності клітин в цих умовах [135]. На 28-му добу росту культури *Ph. autumnale* f.

uncinata за температури 32 °C спостерігалася тенденція до зростання вмісту фікобілінових пігментів щодо значень, зафіксованих як за 20 °C, так і 26 °C. Так, в умовах впливу даного температурного режиму порівняно з 20 °C концентрація С-ФЕ, С-ФЦ та АФЦ була вищою у 2,2, 2,4 та 2 рази відповідно. Водночас порівняно з даними, що були відмічені за 26 °C, вміст цих фотосинтетичних пігментів був вищим лише у 1,4, 1,4 та 1,3 рази відповідно.

Як відомо, фікобіліпротеїни характеризуються сильними антиоксидантними властивостями [237, 241]. Було показано, що вони здатні знешкоджувати різні типи активних кисневих метаболітів (пероксидні радикали, гідроксильні радикали) та знижувати пероксидне окиснення ліпідів [154]. Тому збільшення вмісту цих пігментів у біомасі ціанопрокаріоти на більш пізній стадії її росту у відповідь на дію температури 32 °C може бути пов'язане з їх участю в реакціях захисту до впливу даних температурних умов.

За температури 38 °C, порівняно з іншими досліджуваними температурними режимами (20, 26 та 32 °C), відбувалося значне зниження вмісту С-ФЕ, С-ФЦ та АФЦ на 14-ту добу культивування. Виявлено, що на 28-му добу росту *Ph. autumnale* f. *uncinata* за цих температурних умов величини вмісту фікобіліпротеїнів в культурі наближалися до зафіксованої при 20 °C. Згідно з повідомленням І.М. Цимбал та Н.Ю. Заїченко [116], змінюючи кількість і співвідношення фотосинтетичних пігментів у клітинах, водорості створюють найбільш сприятливі умови для свого існування і тим самим пристосовується до певних умов навколишнього середовища.

Враховуючи те, що фікобіліпротеїни використовуються для діагностики та лікування ракових захворювань і вартість їх на ринку дуже висока (від 3-25 доларів до 1500 доларів за мг) [198] нами було проведені дослідження щодо сумісного впливу різних стресових абіотичних чинників (висока температура, низька освітленість та додаткове внесення до поживного середовища джерела азоту – нітрату натрію) на їх вміст.

Встановлено, що за сумісного впливу короткочасного теплового шоку та додаткового внесення в культуру 1 г/л NaNO_3 вміст с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну в біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* збільшився у 1,3 рази відносно контролю, а за сумісного впливу короткочасного теплового шоку та додаткового внесення в культуру 2 г/л NaNO_3 – у 1,8, 1,7 та 1,7 рази відповідно (див. рис. 3.4.2). Отже в умовах впливу вищої концентрації NaNO_3 зміни вмісту досліджуваних фікобіліпротеїнів були більшими.

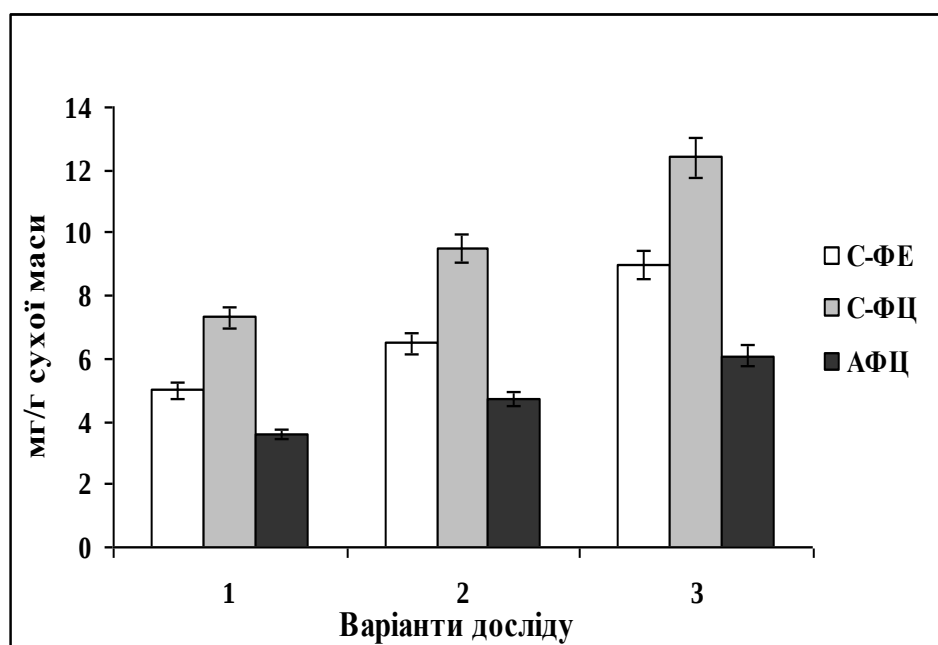


Рис. 3.4.2 Зміни концентрації фікобіліпротеїнів у біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* за сумісного впливу короткочасного теплового шоку та додаткового внесення до поживного середовища нітрату натрію: 1 – контроль; 2 – тепловий шок + внесення в культуру 1 г/л NaNO_3 ; 3 – тепловий шок + внесення в культуру 2 г/л NaNO_3 .

На рис. 3.4.3 представлені результати дослідження сумісного впливу температури, низької освітленості та додаткового внесення в культуру 1 г/л NaNO_3 . Як бачимо, за сумісного впливу трьох різних чинників спостерігалось зростання вмісту с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну в біомасі культури – у 2,8; 3,5 та 2,5 рази. Слід відмітити, що

концентрація с-фікоціаніну в цих умовах підвищилася більше, ніж с-фікоеритрину та алофікоціаніну. Відомо, що с-фікоціанін характеризується сильними антиоксидантними властивостями і здатний знешкоджувати різні типи активних кисневих метаболітів та знижувати пероксидне окиснення ліпідів [166].

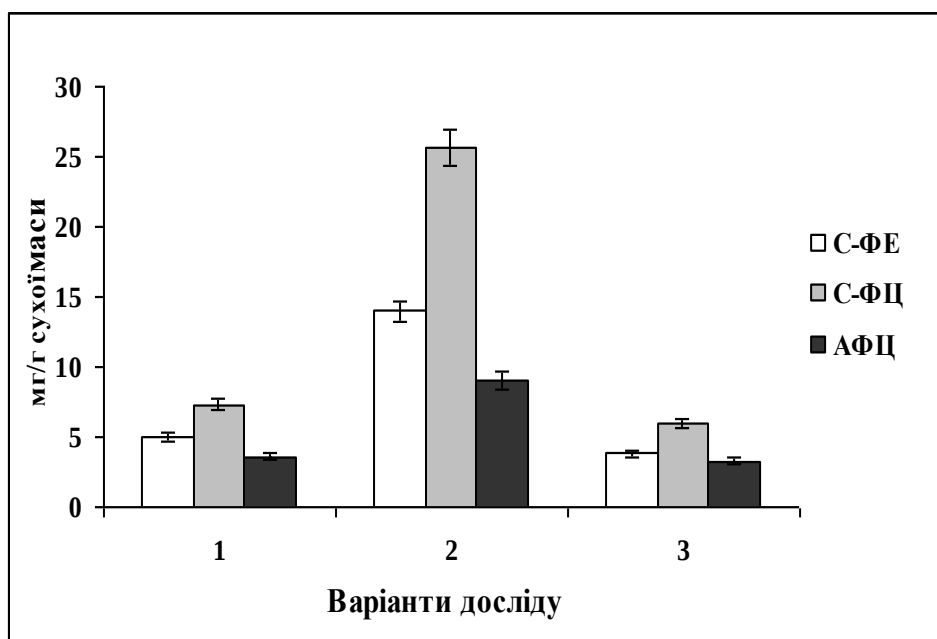


Рис. 3.4.3. Зміни концентрації фікобіліпротеїнів у біомасі *Ph. autumnale* f. *uncinata* за сумісного впливу 3-х різних абіотичних чинників: 1 – контроль; 2 – освітленість 500 лк + тепловий шок + додаткове внесення в культуру 1 г/л NaNO_3 ; 3 – освітленість 500 лк + тепловий шок + додаткове внесення в культуру 2 г/л NaNO_3 .

За сумісного впливу низької освітленості, короткочасного теплового шоку та додаткового внесення в культуру 2 г/л NaNO_3 величина вказаних показників зменшувалася. Це свідчить про зниження функціональної активності досліджуваної водорості за цих умов.

На основі одержаних результатів можна стверджувати, що найбільш істотні зміни концентрації с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну у біомасі ціанопрокаріоти *Phormidium autumnale* f. *uncinata* спостерігалися не за впливу окремого абіотичного чинника (висока температура), а за сумісної

дії 3-х різних абіотичних чинників (висока температура, низька освітленість та додаткове внесення до поживного середовища джерела азоту – нітрату натрію)

Висновки до розділу 3

1. Найбільше накопичення сухої маси у представників Chlorohyta *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* спостерігались за найнижчої з досліджуваних температур – 20 °C, натомість ціанопрокаріота *Aphanocapsa planctonica* накопичувала більшу біомасу за вищих температур (26 та 32 °C). За температури 38 °C відмічено істотне пригнічення росту як зелених мікроводоростей, так і ціанопрокаріоти.

2. З'ясовано, що у відповідь на зміну температури вирощування з 20 °C до 26 та 32 °C вміст хлорофілу *a* у сухій масі культур *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* знижується, а *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata*) – збільшується. За екстремально високої температури (38 °C) у обох видів Chlorohyta та Cyanoprokaryota зареєстровано мінімальне значення цього показника.

3. За температури вирощування 20 °C порівняно з 26 та 32 °C у культур зелених водоростей та ціанопрокаріот посилюється біосинтез каротиноїдів, про що свідчить збільшення їх вмісту в біомасі. Це очевидно пов'язано із їхньою захисною функцією, як низькомолекулярних антиоксидантів. В умовах впливу екстремально високої температури (38 °C) у біомасі досліджуваних видів Chlorohyta та Cyanoprokaryota сумарна концентрація жовтих пігментів, як і хлорофілу *a*, знижувалася, що свідчить про пригнічення їх біосинтезу за цих умов.

4. У літній сезон 2014-2015 рр. у поверхневому шарі води прибережної ділянки затоки Оболонь Канівського водосховища за біомасою домінували представники Cyanoprokaryota (86,0-99,8% від загальної біомаси фітопланктону). Домінантами були основні збудники «цвітіння» води:

Anabaena flos-aquae, *Microcystis aeruginosa* і *Aphanizomenon flos-aquae*. За екстремально високих температурах (28,0–31,0°C) у фітопланктоні переважала *An. flos-aquae*. Найбільший відсоток домінування по біомасі основного збудника «цвітіння» води *M. aeruginosa* реєструвався при більш низьких значеннях температури – 21,0; 23,5 та 25,0 °C. Максимальна біомаса *Aph. flos-aquae* відзначалася як при помірних температурах – 24,0 °C і 26,0 °C, так і при високій температурі – 29,0 °C.

6. Зв'язок між біомасою фітопланктону та вмістом хлорофілу *a* у досліджуваній період носив лінійний характер і характеризувався високим коефіцієнтом детермінації ($R^2 = 0,89$), що, очевидно, пов'язано з досить однорідним фітопланктоном (абсолютне домінуванням *Cyanoprokaryota*), відбором альгологічних проб приблизно в один і той же часовий проміжок, і внаслідок цього досить стабільними умовами освітленості.

7. Кореляція між величиною співвідношення Хл.*a*/Б та освітленістю була дуже слабкою і не достовірною. Це пояснюється тим, що під час відбору проб освітленість коливалася в невеликих межах.

8. Залежність показника Хл. *a*/Б від концентрації розчиненого неорганічного фосфору, амонійного, нітратного, загального неорганічного азоту, величини співвідношення N/P також була не достовірною. Причиною цього є, очевидно, те, що азот і фосфор не лімітують розвиток фітопланктону в літній сезон в затоці Оболонь.

9. Між вмістом хлорофілу *a* в одиниці біомаси фітопланктону та температурою води встановлена зворотна залежність. Зі збільшенням температури води з 21°C до 31 °C величина співвідношення Хл.*a*/Б зменшувалася в 2 рази. За екстремально високих температур сумарний вміст каротиноїдів у представників *Cyanoprokaryota* також зменшувалася. На відміну від хлорофілу, залежність сумарного вмісту каротиноїдів в одиниці біомаси від температури описується не лінійною, а поліноміальною функцією.

10. Найвищі концентрації фікобіліпротеїнів (с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну) у біомасі ціанопрокаріоти *Phormidium autumnale* f. *uncinata* реєструвалися за температур 26 та 32 °С, а найнижчі – при 20 та 38 °С. Зміни вмісту фікобіліпротеїнів є одним із механізмів адаптації *Ph. autumnale* f. *uncinata* до впливу різних температурних умов.

11. При застосуванні комбінованого впливу стресових чинників: короткотривалого підвищення температури культурального середовища, зменшення освітленості та додаткове внесення до нього джерела азоту можна підвищити вихід с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну з біомаси *Phormidium autumnale* f. *uncinata* у 2,8, 3,5 та 2,5 рази відповідно. Ці результати можна використовувати у біотехнологічній практиці при отриманні фікобіліпротеїнів.

РОЗДІЛ 4

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ДИХАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ПРЕДСТАВНИКІВ CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA ЗА РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУР

4.1. Активність сукцинатдегідрогенази

Адаптивно-компенсаторні зміни в рослинних клітинах у відповідь на дію несприятливих чинників середовища, зокрема високих температур, супроводжуються додатковими затратами енергії [3, 96]. Відомо, що провідна роль у підтриманні енергетичного балансу в клітинах живих організмів належить циклу трикарбонових кислот (Кребса) [145, 289]. Однією з ключових його реакцій, пов'язаною із запасанням енергії, є реакція окиснення сукцинату до фумарату, що каталізується сукцинатдегідрогеназою (СДГ), єдиним ферментом циклу трикарбонових кислот, вбудованим у внутрішню мембрану мітохондрій [115]. Під час реакції утворюється ФАДН₂, який може використовуватися як джерело енергії для різних процесів. СДГ – компонент не тільки циклу Кребса, але й дихального електронно-транспортного ланцюга: вона входить до складу комплексу II. Тому її регуляція пов'язана з функціонуванням відразу двох важливих процесів [115, 190, 239, 289].

Встановлено, що у зеленої мікроводорості *D. communis* за температури 26 °C на 14-у добу культивування активність СДГ залишалася практично на одному рівні із зареєстрованою за 20 °C. Разом з тим на 28-добу культивування за вищої із досліджуваних температур спостерігалось збільшення величини досліджуваного показника на 30 % (рис. 4.1.1). Підвищення активності СДГ свідчить про інтенсифікацію функціонування циклу Кребса, що, очевидно, пов'язано із зростанням енергетичних затрат на підтримання гомеостазу клітин.

За температури 32 °С порівняно з 20 та 26 °С на експоненціальній фазі росту культури *D. communis* активність СДГ була нижчою на 19 та 26 % відповідно. З виходом культури на стаціонарну стадію росту значення вказаного показника наближалися до зареєстрованих при 20 °С. Такі зміни в функціонуванні ключового ферменту циклу Кребса є, очевидно, однією з адаптивних реакцій водорості на вплив досліджуваного температурного режиму культурального середовища.

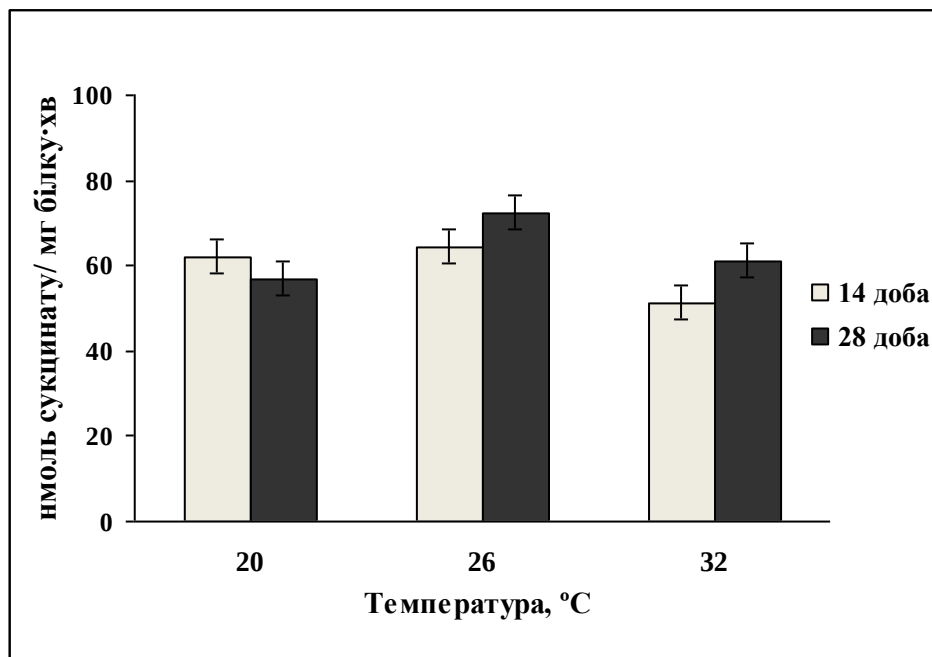


Рис. 4.1.1. Активність сукцинатдегідрогенази у клітинах культури *Desmodesmus communis* за різних температур.

У *T. caudatum* за температур 26 °С та 32 °С порівняно з 20 °С величина показників активності СДГ була вищою протягом усього досліджуваного періоду (рис. 4.1.2.). Проте, на 14-у добу росту мікроводорості за температури 26 °С вона була більшою від зареєстрованої за 20 °С на 32 %, а на 28-у добу – лише на 13 %. При збільшенні температури вирощування *T. caudatum* з 20 °С до 32 °С на 14-у добу культивування активність ферменту зросла на 47 %, тоді як на 28-у добу – на 23 %. Отже, у молодшої за віком культури за вказаних умов зміни активності СДГ були суттєвіші, ніж у

старшої. Слід відмітити, що суха маса водорості та вміст хлорофілу *a* за температур 26 °C та 32 °C були нижчими, ніж за 20 °C (розділ 3).

Підвищення активності СДГ у клітинах водоростей у відповідь на збільшення температури вирощування свідчить про активацію сукцинатдегідрогеназної ланки дихального ланцюга, яка відіграє важливу роль в компенсаторному пристосуванні окиснювального обміну до несприятливих умов [12, 40].

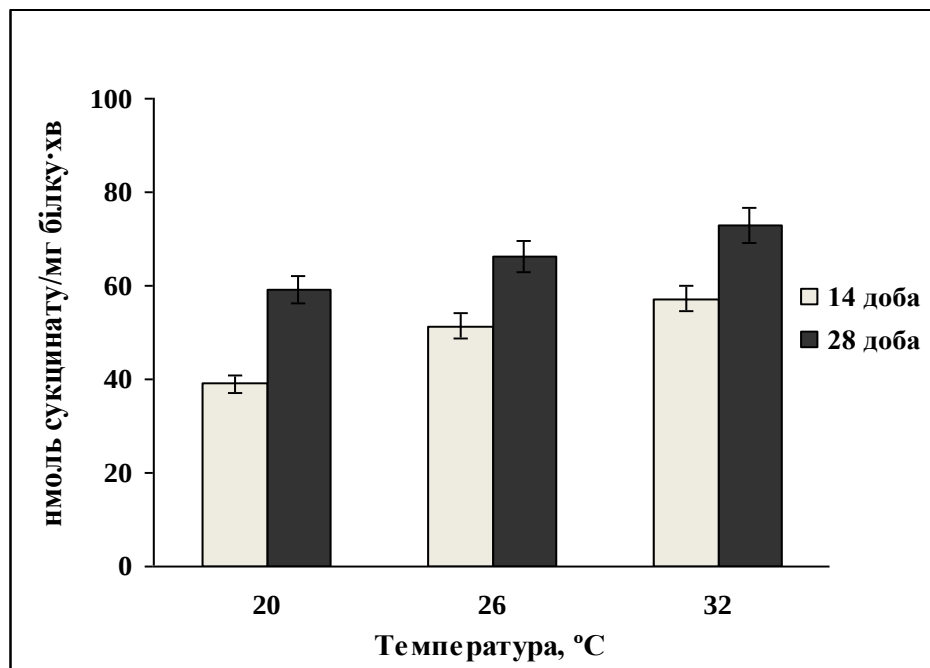


Рис. 4.1.2. Активність сукцинатдегідрогенази у клітинах культури *Tetraedron caudatum* за різних температур.

У ціанопрокаріоти *Aph. planctonica* за температури 20 °C протягом досліджуваного періоду активність СДГ практично не відрізнялася від зареєстрованої за 26 °C (рис. 4.1.3). За температури 32 °C у культури *Aph. planctonica* у різних фазах росту зміни зазначеного показника були неоднозначними. Якщо у експоненціальній фазі росту за цієї температури, порівняно із іншими досліджуваними, істотних змін активності ферменту не реєструвалося, то у стаціонарній фазі – спостерігалось повне її пригнічення.

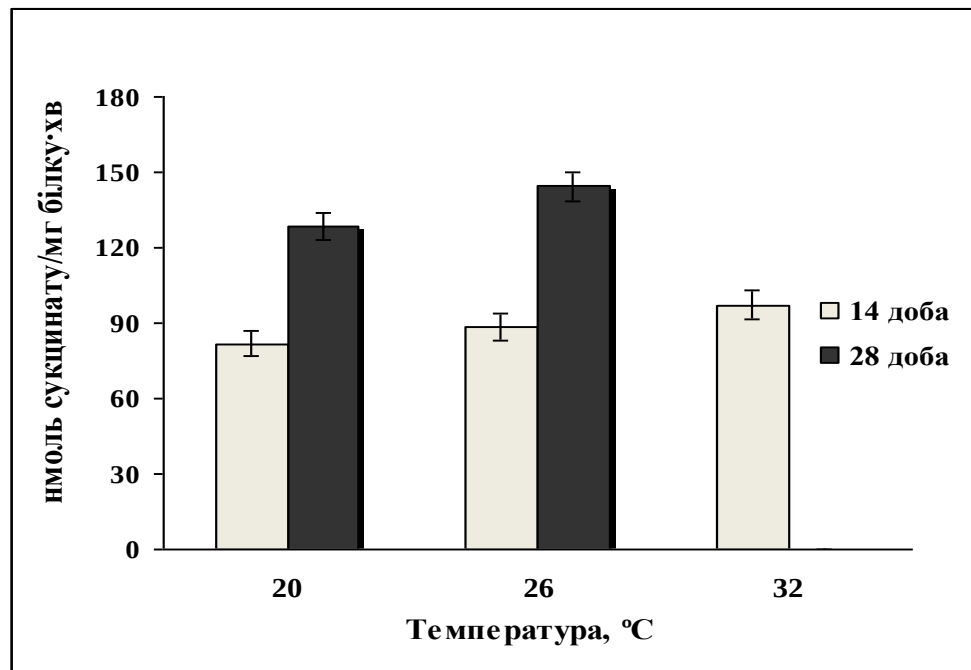


Рис. 4.1.3. Активність сукцинатдегідрогенази у клітинах культури *Aphanocapsa planctonica* за різних температур

У *Ph. autumnale* f. *uncinata* на 14-у та 28-у доби культивування за температури 20 °C, порівняно з 26 °C, активність СДГ була нижчою відповідно на 18 та 30 %. Слід зазначити, що це узгоджується з результатами наших досліджень щодо найнижчих показників фотосинтетичних пігментів у ціанопрокаріоти в умовах впливу вказаної температури культивування (розділ 3).

За температури 32 °C на 14-у добу росту культури *Ph. autumnale* f. *uncinata* активність СДГ була вищою від зареєстрованої за 20 та 26 °C відповідно на 70 і 42 %. Натомість, на 28-у добу у досліджуваної ціанопрокаріоти, як і у *Aph. planctonica*, за вказаної температури відмічалось повне пригнічення активності ферменту. Різке падіння активності одного з ключових ферментів циклу Кребса на стаціонарній фазі росту у обох ціанопрокаріот, ймовірно, обумовлено змінами в їх енергетичному метаболізмі, в ході яких має місце активація анаеробної гілки енергозабезпечення.

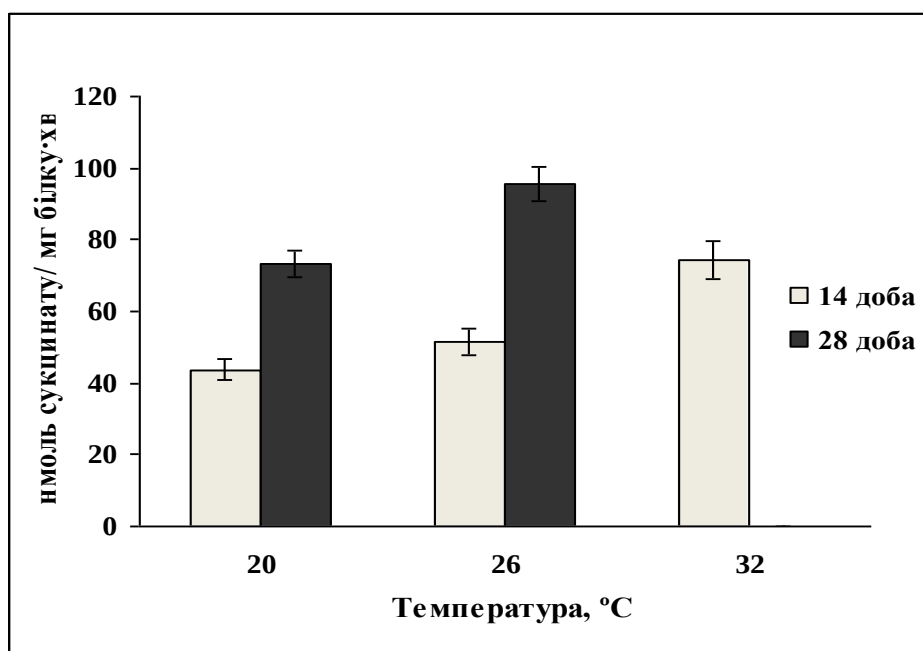


Рис. 4.1.4. Активність сукцинатдегідрогенази у клітинах культури *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за різних температур

4.2. Активність цитохромоксидази

Важлива роль в енергозабезпеченні метаболічних процесів, що відбуваються у клітинах водоростей, належить цитохромоксидазі (ЦХО) – кінцевому ферменту дихального ланцюга, що каталізує перенесення електронів із цитохрому *c* на молекулярний кисень, відновлюючи його до води [114, 277]. Функціонування цього ферменту пов'язане зі створенням електрохімічного градієнту протонів для ініціювання реакції синтезу АТФ. В цілому цитохромоксидаза працює як протонний насос, що забезпечує при перенесенні одного електрона транспорт двох протонів [113]. У еукаріотних водоростей цитохромоксидаза локалізується у внутрішній мембрані мітохондрій, а у прокаріотних – у тилакоїдній мембрані [293]. Активність цього ферменту у рослин сильно змінюється при коливаннях температури [114, 179].

Згідно з одержаними результатами, у *D. communis* за температури 26 °C порівняно з 20 °C протягом досліджуваного періоду реєструвалася вища активність ЦХО (рис. 4.2.1). При цьому на 14-у добу культивування величина

зазначеного показника була більшою у 3,2 рази, а на 28-у добу – у 1,2 рази. Підвищення активності цього ферменту вказує на інтенсифікацію роботи дихального електронно-транспортного ланцюга.

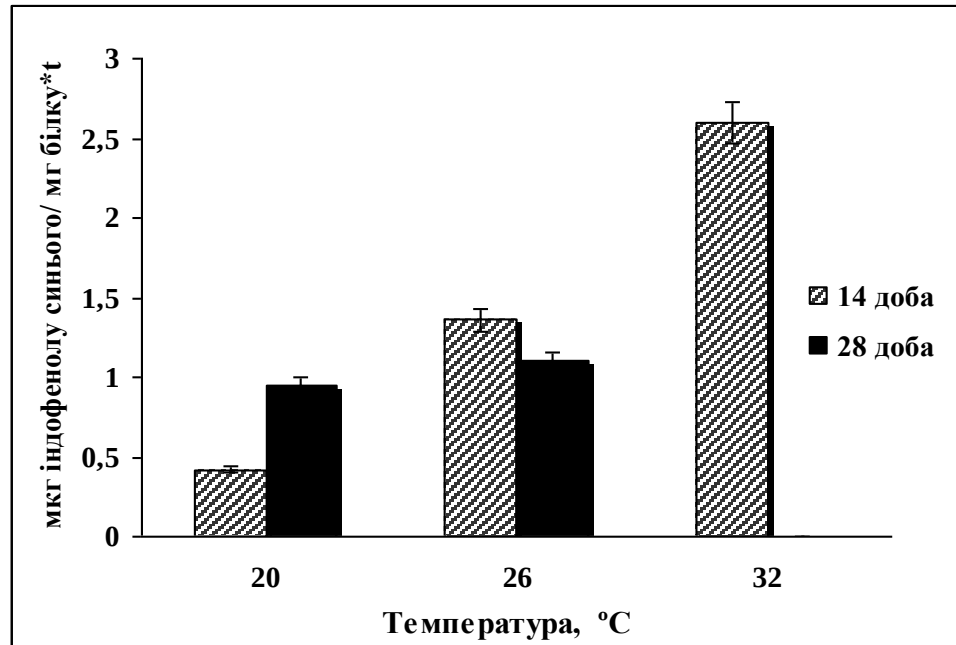


Рис. 4.2.1. Активність цитохромоксидази у клітинах культури *Desmodesmus communis* за різних температур.

Слід зауважити, що у відповідь на збільшення температури вирощування з 20 °C до 26 °C вміст хлорофілу *a* у біомасі *D. communis* знижувався, що свідчить про пригнічення функціонування фотосинтетичного апарату мікробіодорості. Вважають, що при зниженні активності фотосинтетичного апарату домінуюче значення за несприятливих умов має метаболічна трансформація різних ланок дихального метаболізму. Дихання при цьому виступає основним постачальником енергії для активації механізмів захисту до дії стресора [5].

В літературі є відомості про те що, фотосинтез є більш чутливим до дії високих температур, ніж дихання. Це пов'язано з тим, що ферменти, які використовуються в процесі фотосинтезу, за несприятливих температур інактивуються швидше, ніж ті, що беруть участь в процесі дихання [84, 128].

Згідно з одержаними даними, активність СДГ у *D. communis* за температури 26 °С порівняно з 20 °С, загалом, також була більшою. Отже відмічене нами збільшення активності ЦХО та СДГ у клітинах мікроводорості за вищої із досліджуваних температур, ймовірно, пов'язано із зростанням енерговитрат на її адаптацію до цих умов.

У *T. caudatum* за температури 26 °С спостерігалася дещо інша картина змін активності ключового ферменту аеробного дихання, ніж у *D. communis* (див. рис. 4.2.2).

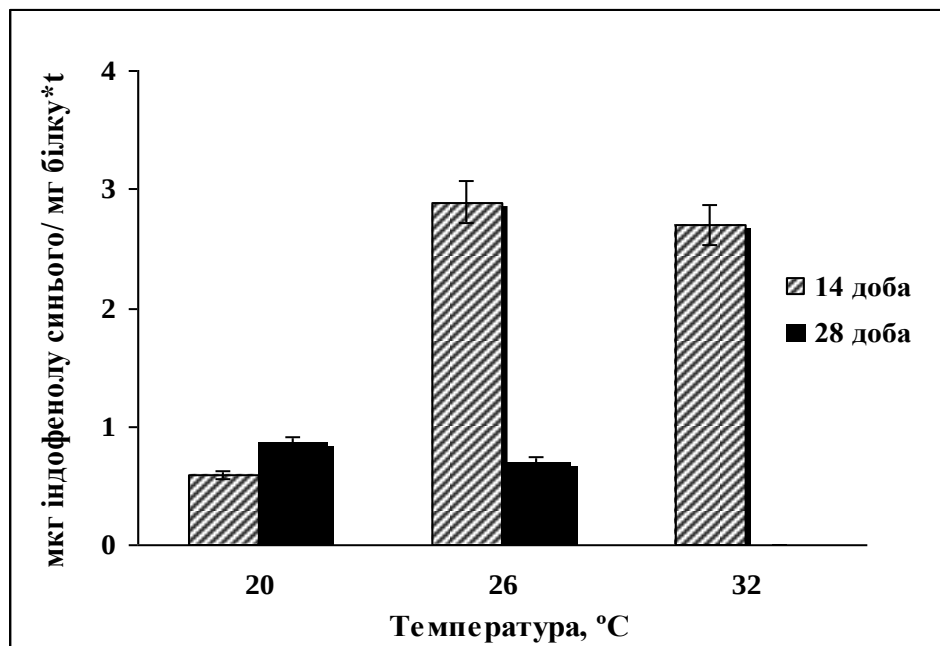


Рис. 4.2.2. Активність цитохромоксидази у клітинах культури *Tetraedron caudatum* за різних температур.

На 14-у добу росту *T. caudatum* за вказаної температури активність ЦХО була значно вищою від зареєстрованої за 20 °С (у 5 разів), проте з виходом культури на стаціонарну фазу (28-а доба) вона навіть дещо зменшилася (у 1,2 рази). Активність СДГ за цих умов була більшою протягом усього періоду досліджень. Очевидно, у старшої за віком культури за дії підвищеної температури відбувається порушення роботи дихального ланцюга, проте функціонування циклу Кребса при цьому не порушується.

При 32 °C порівняно з 20 °C на 14-у добу росту культур *D. communis* та *T. caudatum* спостерігалось істотне збільшення активності ЦХО, що, в свою чергу, свідчить про інтенсифікацію дихання у них за цих умов. Як видно із даних, наведених на рис. 4.2.1, у *D. communis* за цієї температури значення вказаного показника були більшими від зареєстрованих при 20 °C у 6,2 рази, а у *T. caudatum* – у 4,6 рази (рис. 4.2.2). На 28-добу культивування за температури 32 °C у обох зелених мікрооростей спостерігалось повне інгібування активності ЦХО. Слід відмітити, що СДГ при цьому зберігала високу активність (див. рис. 4.1.1, 4.1.2).

Як відомо, цитохромоксидаза характеризується високою спорідненістю до кисню [114]. Встановлено, що вміст хлорофілу *a* в біомасі *D. communis* та *T. caudatum* за температури 32 °C був нижчим, ніж за інших досліджуваних температур (розділ 3), що свідчить, в свою чергу, про нижчу функціональну активність фотосинтетичного апарату. Це означає, що кисень, як продукт фотосинтезу, в цих умовах утворюється в меншій кількості. Проте використовується, навпаки, в більшій кількості, на що вказує значне зростання активності ЦХО за максимальної температури на 14-у добу росту культур. Слід відмітити також факт, що за дії високих температур розчинність кисню у водному середовищі знижується [1, 112]. Тому, на нашу думку, інактивація ЦХО у старших за віком культур водоростей може бути обумовлена дефіцитом кисню.

В літературі є відомості про те, що у рослин, в тому числі і водоростей, крім основного (цитохромного) шляху транспорту електронів, існує ще альтернативний, пов'язаний із функціонуванням альтернативної оксидази [142, 267, 292]. Альтернативна оксидаза, на відміну від цитохромоксидази, характеризується нижчою спорідненістю до кисню. Деякі автори також вважають, що альтернативний шлях дихання менш чутливий до змін температури, ніж цитохромний [134, 218]. Блокування або інгібування транспорту електронів по цитохромному ланцюгу призводить до інгібування циклу Кребса та активації гліколізу. Альтернативна оксидаза дає можливість

продовжувати функціонувати циклу трикарбонових кислот в умовах, коли цитохромний шлях блокується або обмежується наявністю АДФ [296]. Саме з функціонуванням цього ферменту, на нашу думку, пов'язане збереження високої активності сукцинатдегідрогенази у клітинах зелених мікроводоростей. Активування альтернативної оксидази у рослин, в тому числі водоростей, за дії високих температур показано у ряді робіт [244, 267, 292, 301].

Як відомо, у клітинах еукаріотних водоростей фотосинтез відбувається у мембранах хлоропластів, а дихання – на внутрішній мембрані мітохондрій. Особливістю прокаріотних водоростей є те, що у них фотосинтетичний та дихальний електронний транспорт відбувається в одній і тій же мембрані – тилакоїдній з використанням сумісно багатьох інтермедіатів, іноді навіть одночасно [60, 226, 279]. За несприятливих умов у ціанопрокаріот між фотосинтезом та диханням може бути конкуренція за ці інтермедіати [168].

Проведені експерименти свідчать, що у досліджуваних видів *Cyanoprokaryota* за мінімальної температури порівняно з 26 °C активність ЦХО була істотно нижчою (рис. 4.2.3, 4.2.4). У *Aph. planctonica* на 14-у добу культивування величина цього показника була меншою у 1,7 рази, а на 28-у добу – у 1,9 рази.

У *Ph. autumnale* f. *uncinata* за температури 20 °C протягом досліджуваного періоду активність ферменту була нижчою від зареєстрованої за 26 °C у 1,7 рази. Це узгоджується із отриманими нами результатами щодо активності СДГ і свідчить про пригнічення функціонування дихального ланцюга та циклу Кребса у ціанопрокаріот в умовах впливу мінімальної з досліджуваних температур. Суха маса та вміст фотосинтетичних пігментів у них при вирощуванні за вказаного температурного режиму також були меншими. Відмічений факт свідчить про уповільнення загального метаболізму ціанопрокаріот за температури 20 °C.

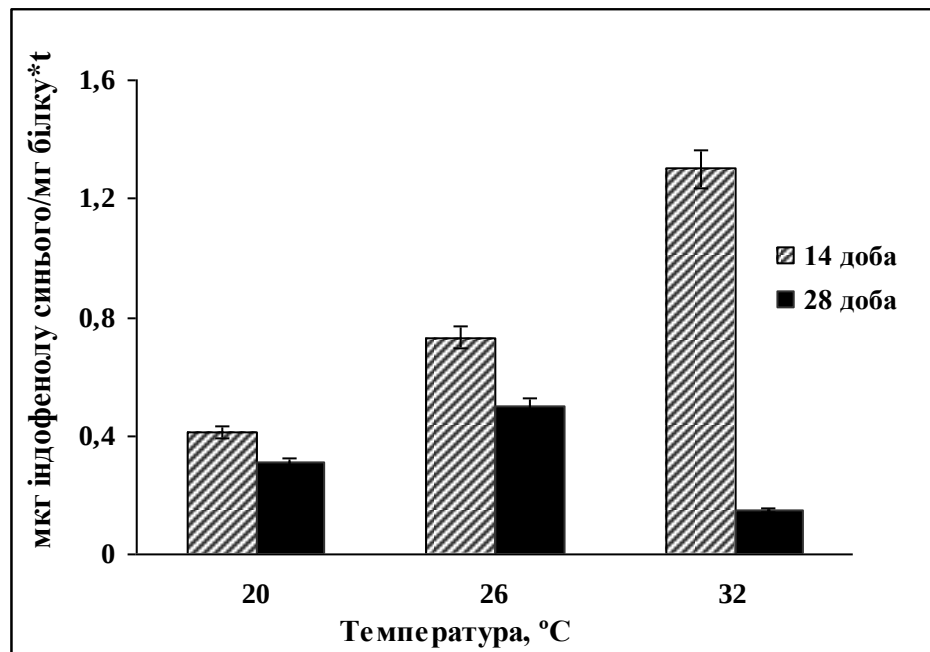


Рис. 4.2.3. Активність цитохромоксидази у клітинах культури *Aphanocapsa planctonica* за різних температур

За температури 32 °C на 14-у добу росту у обох культур Суанопрокаріота реєструвалася максимальна активність ЦХО. При цьому у *Aph. planctonica* рівень цього показника був вищим, ніж за 20 °C та 26 °C у 3,2 і 1,8 рази відповідно, а у *Ph. autumnale* f. *uncinata* – у 2,1 і 1,2 рази відповідно. Разом з тим, зі збільшенням віку культури та тривалості впливу температури до 28-и діб активність ЦХО, як і СДГ, практично повністю інгібувалася. Повне інгібування активності обох ферментів свідчить про пригнічення аеробного дихання.

Встановлено, що за температури культурального середовища 32 °C ціанопрокаріота *Ph. autumnale* f. *uncinata* протягом усього періоду досліджень накопичувала більшу кількість хлорофілу *a* у біомасі, ніж за інших досліджуваних температур, що, в свою чергу, свідчить про вищу інтенсивність фотосинтезу. Очевидно, основним постачальником енергії для підтримання клітинного метаболізму в цих умовах є фотосинтез.

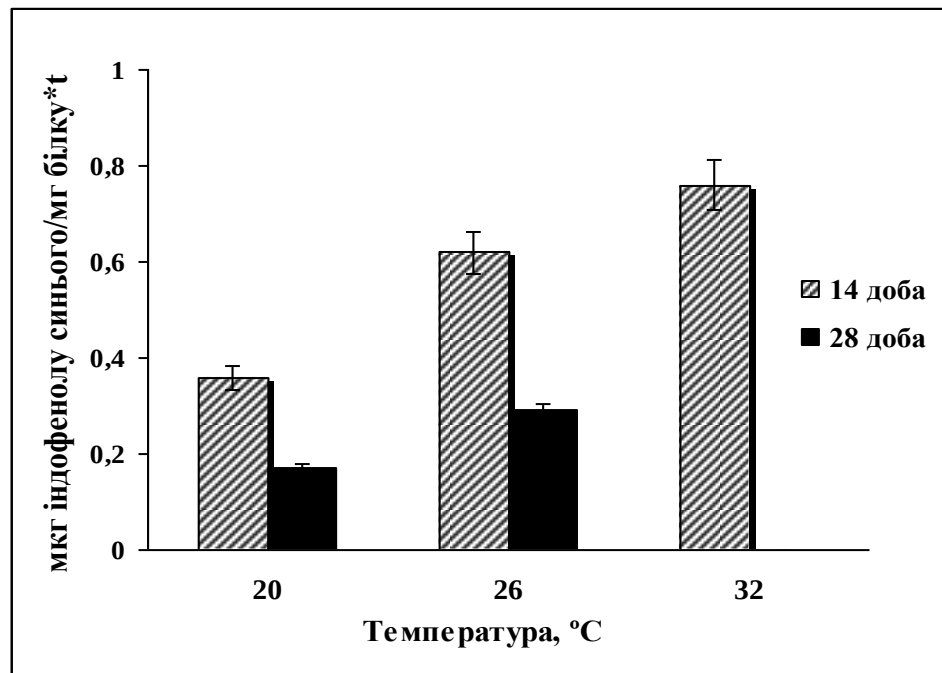


Рис. 4.2.4. Активність цитохромоксидази у клітинах культури *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за різних температур.

У *Aph. planctonica* на 28-у добу росту за температури 32 °C спостерігалось не лише пригнічення дихання, але й фотосинтезу, про що свідчить зниження вмісту хлорофілу *a* в біомасі ціанопрокаріоти, а також збільшення величини співвідношення $\Sigma \text{кар}/\text{Хл } a$ (див. розділ 3). Отже, довготривала дія температури 32 °C була більш несприятлива для функціонування *Aph. planctonica*, ніж на *Ph. autumnale* f. *uncinata*.

Висновки до розділу 4

1. У представників Chlorophyta за температур 20 °C, 26 °C та 32 °C значних відмінностей у активності СДГ не спостерігалось, що свідчить про відсутність суттєвих змін у функціонуванні циклу трикарбонових кислот. Натомість, у представників Cyanoprokaryota за температури 32 °C із виходом культур у стаціонарну фазу росту відмічалось практично повне інгібування активності цього ферменту, що вказує на істотні зміни в енергетичному метаболізмі клітин.

2. Зміни показників активності ЦХО за температур 26 та 32 °C, порівняно з 20 °C, у *D. communis* та *T. caudatum* носили фазний характер: якщо у експоненціальній фазі росту культур активність ферменту стрімко зростала, то з переходом на стаціонарну фазу росту – або практично не змінювалася (за 26 °C), або повністю інгібувалася (за 32 °C).

3. У представників Cyanoprokaryota *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* за мінімальної температури (20 °C) активність ЦХО були істотно меншою, ніж за 26 °C, протягом усього періоду досліджень. В умовах впливу температури 32 °C, порівняно з іншими досліджуваними, на 14-у добу росту обох культур активність ключового ферменту дихального ланцюга помітно зросла, а на 28-у добу – знизилася, що свідчить про значні перебудови в дихальному метаболізмі *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* за даних температурних умов.

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ ПІДВИЩЕНИХ ТЕМПЕРАТУР НА АКТИВНІСТЬ ГЛУТАМАТДЕГІДРОГЕНАЗИ КУЛЬТУР CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA

Висока пластичність азотного обміну – один з найважливіших принципів пристосування рослин до різних екологічних чинників, у тому числі й температурного [34, 275, 304]. Провідною компонентою цієї пластичності є зміна швидкості окремих ензиматичних реакцій [34]. Тому для розуміння адаптивних реакцій водоростей до дії несприятливих температур важливим є вивчення активності ферментів азотного метаболізму.

Ключовою ланкою азотного обміну є взаємоперетворення α -кетоглутарату і глутамату за участю глутаматдегідрогенази (ГДГ), при якому одночасно відбувається взаємотрансформація неорганічного амонійного азоту та органічного α -амінного азоту. Роль відновника в цих процесах може відігравати НАДН або НАДФН. ГДГ забезпечує не лише підтримання азотного гомеостазу в клітині, але й може здійснювати субстратне регулювання циклу Кребса за рахунок дезамінування глутамату [13, 28]. Відомо, що у рослин та мікроорганізмів НАДН-ГДГ є катаболічним ферментом та здійснює переважно дезамінування глутамату, а НАДФН-ГДГ – анаболічним і здійснює амінування 2-оксоглутарату [14].

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить про те, що зміни активності НАДН та НАДФН-залежної ГДГ за впливу різних температурних умов (20, 26 та 32 °C) у досліджуваних видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota були неоднаковими.

У *D. communis* за температури 26 °C активність як НАДН-ГДГ, так і НАДФН-ГДГ протягом досліджуваного періоду була вищою порівняно із зареєстрованою за 20 °C, що свідчить про інтенсифікацію азотного

метаболізму загалом за цих умов (рис. 5.1). Проте, слід зазначити, що у експоненціальній фазі росту мікроводорості (14-а доба) за температури культурального середовища 26 °С активність анаболічної ГДГ була більшою, ніж катаболічної ГДГ (табл. 5.1).

Таблиця 5.1.

**Співвідношення активності НАДН- та НАДФН-залежної ГДГ у
представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за впливу
підвищених температур**

Культури водоростей	Тривалість вирощування, діб	Співвідношення НАДН-/НАДФН- ГДГ		
		20 °С	26 °С	32 °С
<i>D. communis</i>	14	1:0,8	1:1,5	1:1
	28	1:1	1:0,8	1:0,8
<i>T. caudatum</i>	14	1:1	1:2,4	1:1
	28	1:1,6	1:0,9	1:1,2
<i>Aph. planctonica</i>	14	1:1,5	1:2,5	1:3
	28	1:2	1:0,8	1:2
<i>Ph. autumnale</i> f. <i>uncinata</i>	14	1:0,6	1:0,9	1:0,4
	28	1:0,7	1:0,3	1:0,9

З виходом культури на стаціонарну фазу росту за цієї температури спостерігалася протилежна тенденція: активність НАДФН-ГДГ навпаки була меншою порівняно з активністю НАДН-ГДГ. Це вказує на те, що у клітинах молодшої за віком культури *D. communis* за досліджуваних температурних умов переважають процеси амінування, тоді як у клітинах старішої за віком культури – дезамінування.

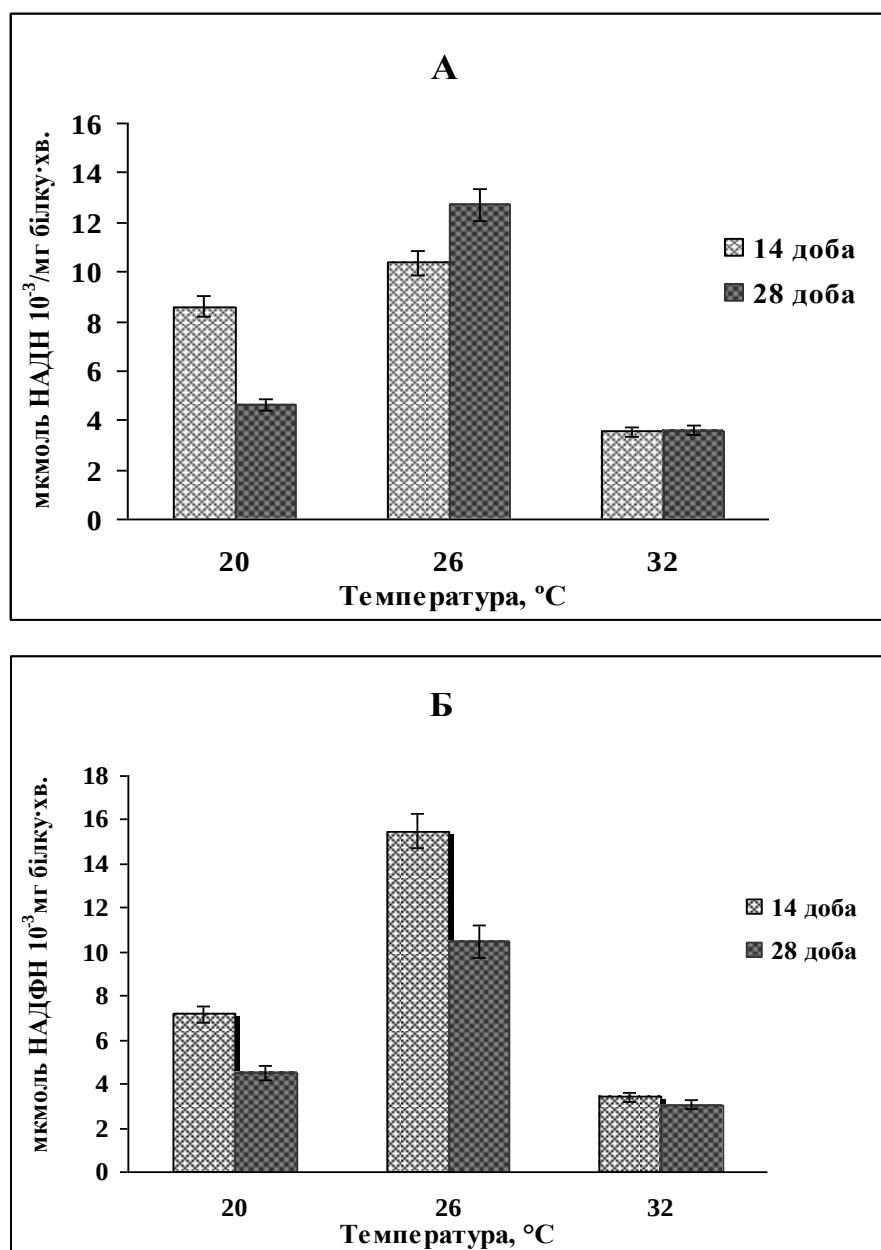


Рис. 5.1. Активність глутаматдегідрогенази у *Desmodesmus communis* за впливу підвищених температур: А – НАДН-ГДГ; Б – НАДФН-ГДГ.

З літературних джерел відомо, що за дії різних несприятливих чинників середовища у рослин відбувається активування анаболічної ГДГ під впливом ендогенного амонію, концентрація якого значно зростає. Вважають, що в умовах фізіологічних стресів ГДГ виконує важливу роль в детоксикації аміаку [207, 255]. З іншого боку, підвищення активності катаболічної ГДГ свідчить про те, що фермент бере участь в підтриманні вуглеводного

метаболізму шляхом утворення субстрату 2-оксоглутарату для циклу Кребса [205, 207].

Деякі автори вважають, що рівень експресії генів ГДГ у рослин визначається вуглеводним статусом їх клітин [22]. Згідно з С.А. Робінсоном і співавторами [255], коли знижується фотосинтез і відповідно зменшується кількість вуглецю, активність ГДГ у рослинних клітинах зростає. Підвищення кількості активного ферменту дозволяє клітині використовувати глутамат як енергетичний субстрат [22].

За температури 32 °С, порівняно з іншими температурними умовами, відбувається зниження активності ГДГ в обох напрямках у *D. communis*, особливо на експоненціальній фазі росту культури. На 14-у добу культивування водорості величина показників амінуючої та дезамінуючої активності ГДГ була нижчою у 2,1 та 2,4 рази відповідно, ніж за 20 °С, тоді як на 28-у добу – у 1,5 та 1,3 рази відповідно. Ймовірно, дія найвищої температури зумовлює порушення функціонування глутаматдегідрогеназної системи у досліджуваній водорості.

Встановлено, що у *T. caudatum* за температури 26 °С порівняно з 20 °С зміни активності НАДН- та НАДФН-ГДГ носили фазний характер (рис. 5.2). На 14-у добу росту мікроводорості за досліджуваного температурного режиму активність анаболічної ГДГ була вищою у 2,1 рази порівняно із зареєстрованою за температури 20 °С, а катаболічної ГДГ, навпаки, нижчою у 1,4 рази. Співвідношення НАДН-/НАДФН-ГДГ при цьому складало 1:2,4. Це свідчить про зміщення ГДГ-ної реакції у бік амінування 2-оксоглутарату, що забезпечує більш ефективне виведення аміаку, який за дії підвищеної температури, очевидно, утворюється в значних кількостях. На 28-у добу росту культури за температури 26 °С порівняно з 20 °С активність НАДН-ГДГ дещо підвищилася, а НАДФН-ГДГ – знизилася, тобто реакція змістилася у бік утворення 2-оксоглутарату.

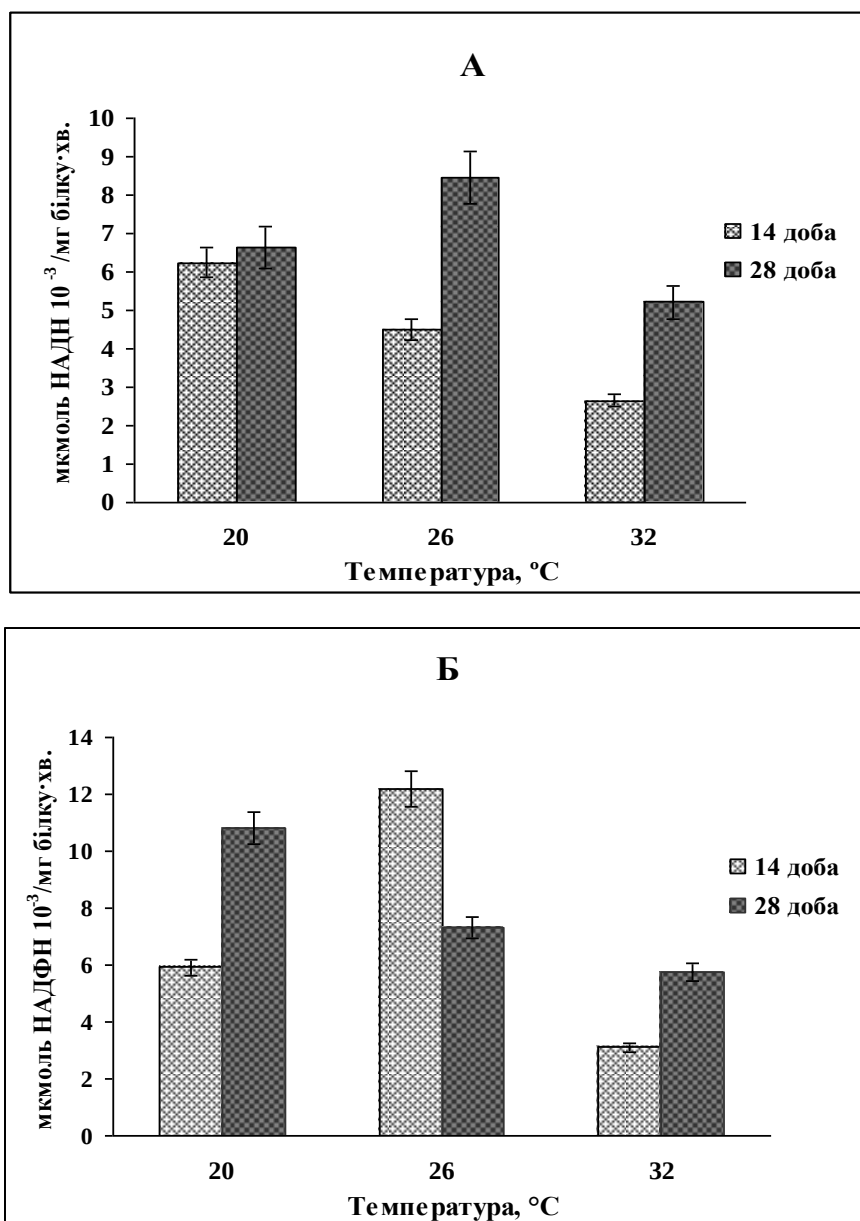


Рис. 5.2. Активність глутаматдегідрогенази у *Tetraedron caudatum* за впливу підвищених температур: А –НАДН-ГДГ; Б – НАДФН-ГДГ.

За дії температури 32 °C у *T. caudatum* активність ГДГ у обох випадках була значно меншою, ніж за 20 та 26 °C, протягом всього досліджуваного періоду. Відмічений факт свідчить про інгібуючий вплив температури 32 °C на активність НАДН- та НАДФН-ГДГ у мікроводорості. Одержані нами результати узгоджуються з даними В.І Бабенко і Ф.Д. Нарійчук, згідно з якими за впливу несприятливих температур у рослин відбувається зниження активності ГДГ [6].

У ціанопрокаріоти *Aph. planctonica* за мінімальної із досліджуваних температур (20 °C) на 14-у добу активність НАДФН-ГДГ була нижчою, а НАДН-ГДГ – не відрізнялася від зареєстрованої за 26 °C. На 28-у добу, навпаки, – активність анаболічного напрямку ГДГ-реакцій була вищою, тоді катаболічного шляху спрямування – нижчою, ніж за 26 °C (рис. 5.3). Співвідношення НАДН-/НАДФН-ГДГ при цьому складало 1:2 (табл. 5.1). Можливо, зміна активності НАДН- і НАДФН-залежних ГДГ в бік амінування пояснюється тим, що в клітині відбувається перерозподіл продуктів амінування для синтезу амінокислот, що забезпечують адаптивну реакцію водорості до впливу несприятливого чинника [12].

Температура 32 °C зумовлювала подібний вплив на обидві форми ферменту *Aph. planctonica*. У експоненціальній фазі росту культури за цих умов значення активності НАДН- та НАДФН-ГДГ були помітно нижчими порівняно із зареєстрованими як при 26 °C, так і при 20 °C. З виходом культури на стаціонарну фазу росту величина активності анаболічної та катаболічної ГДГ наближалася до значень цих показників, що були відмічені при 20 °C.

Як видно із даних, наведених у табл. 5.1, у ціанопрокаріоти *Ph. autumnale* f. *uncinata* за усіх досліджуваних температурних режимів активність НАДН-ГДГ була вищою, ніж активність НАДФН-ГДГ, що свідчить про переважання процесів дезамінування над процесами амінування.

Встановлено, що у *Ph. autumnale* f. *uncinata* максимальні значення показників активності обох форм ферменту відмічалися за температури 26 °C (рис. 5.4). На 14-у добу росту культури за мінімальної температури активність ГДГ з НАДН практично не відрізнялася від зареєстрованої за 26 °C, тоді як на 28-у добу вона була вищою у 1,6 рази. Щодо активності ГДГ з НАДФН, то вона за нижчої із досліджуваних температур на 14-у добу культивування ціанопрокаріоти була меншою у 1,4 рази, а на 28-у добу – практично не відрізнялася від зареєстрованої за 26 °C.

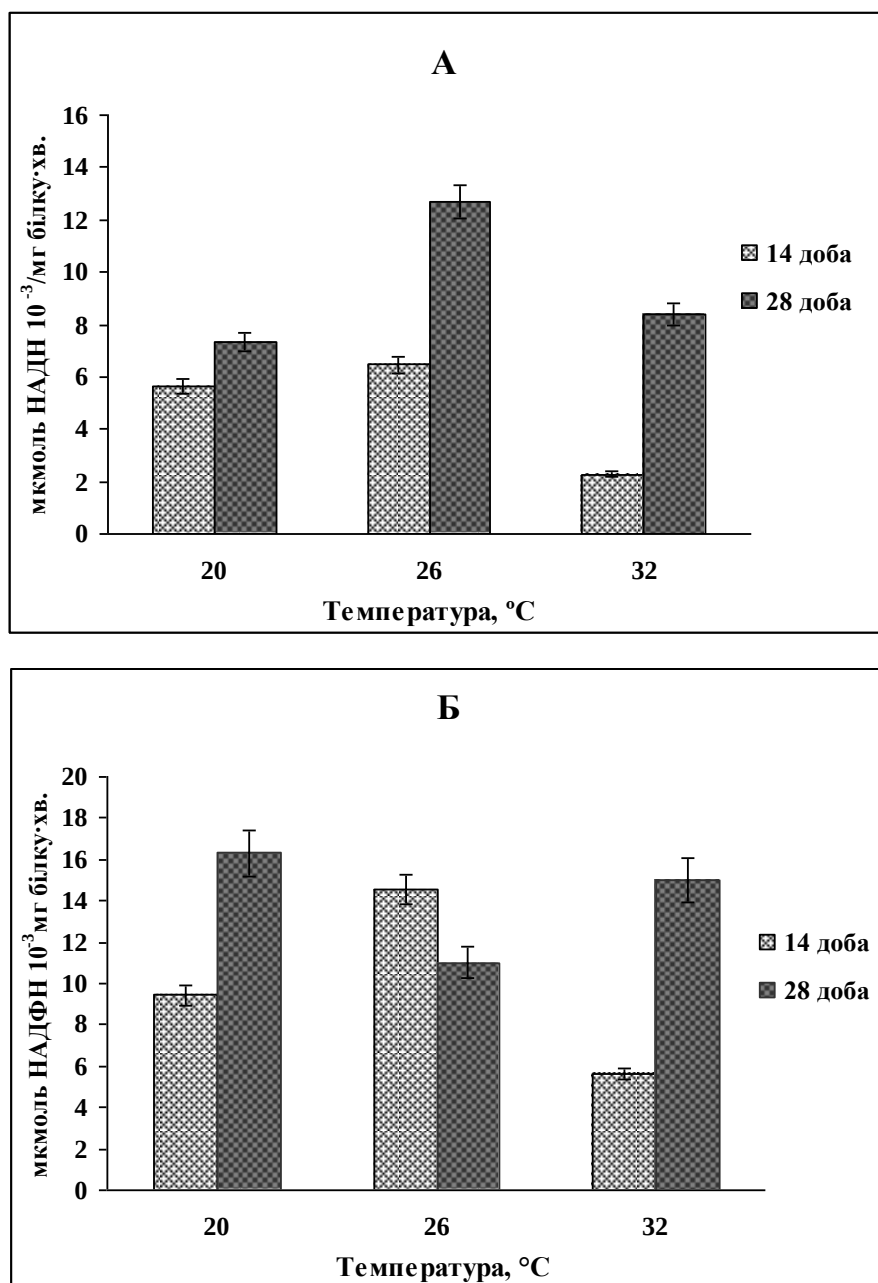


Рис. 5.3. Активність глутаматдегідрогенази у *Aphanocapsa planctonica* за впливу підвищених температур: А – НАДН-ГДГ; Б – НАДФН-ГДГ.

За температури 32 °C на різних фазах росту культури зміни активності обох форм ферменту також були неоднозначними. Так, у експоненціальній фазі росту *Ph. autumnale* f. *uncinata* за досліджуваної температури активність анаболічної ГДГ була нижчою від зареєстрованої за 20 та 26 °C, а з виходом культури на стаціонарну фазу росту наближалася до величини відповідних показників.

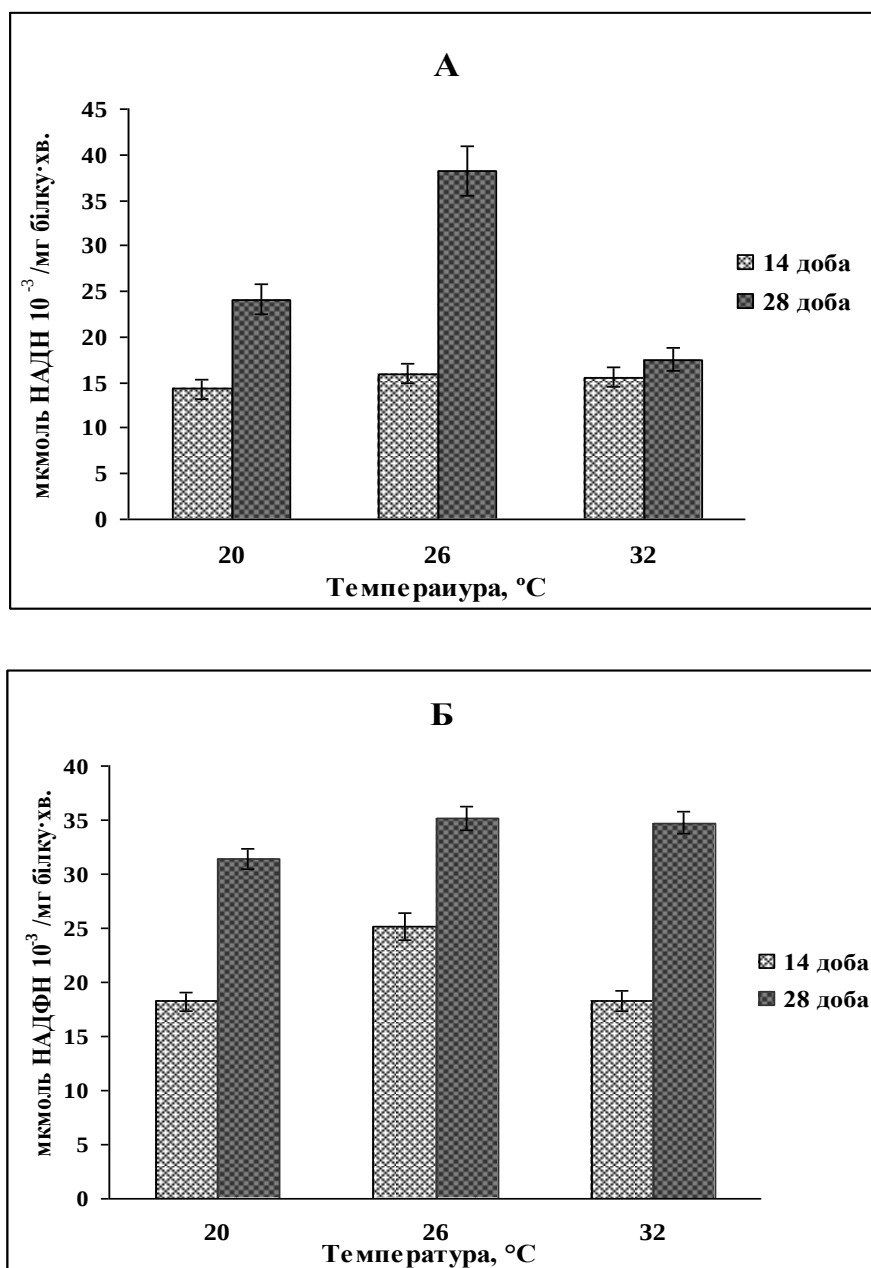


Рис. 5.4. Активність глутаматдегідрогенази у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за впливу підвищених температур: А – НАДН-ГДГ; Б – НАДФН-ГДГ.

У випадку із активністю катаболічної ГДГ спостерігалася протилежна тенденція: на 14-добу росту культури в умовах температури 32 °С порівняно з 20 та 26 °С вона практично не змінилася, тоді як на 28-у добу зменшилася у 1,3 та 2,1 рази відповідно.

Слід зауважити, що вираженого інгібуючого впливу на активність обох ГДГ за температури 32 °С у *Phormidium autumnale* f. *uncinata*, як у інших видів, не спостерігалось. Це узгоджується з одержаними нами результатами щодо змін фотосинтетичних пігментів, і свідчить про найменшу чутливість цієї водорості до досліджуваної температури.

Висновки до розділу 5

1. Збільшення температури вирощування з 20 до 26 °С призводить до активування глутаматдегідрогеназної гілки азотного обміну у *D. communis* протягом всього періоду культивування водорості, що, очевидно, є однією з її адаптивних реакцій на вплив підвищеної температури. Натомість у *T. caudatum* за температури 26 °С зміни активності ГДГ з НАДН та НАДФН відрізнялися на різних фазах росту (експоненціальна, стаціонарна).

2. Найвища із досліджуваних температур 32 °С суттєво інгібувала активність глутаматдегідрогенази у обох видів Chlorophyta.

3. У ціанопрокаріот *Aph. planctonica* та *Ph. autumnale* f. *uncinata* активність анаболічної та катаболічної ГДГ, загалом, максимальна за температури 26 °С. *Ph. autumnale* f. *uncinata* порівняно з *Aph. planctonica* та обома досліджуваними видами зелених водоростей характеризувався найменшими змінами активності ГДГ в обох напрямках в умовах впливу температури 32 °С.

РОЗДІЛ 6

СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПРЕДСТАВНИКІВ CHLOROPHYTA ТА CYANOPROKARYOTA ЗА ДІЇ ПІДВИЩЕНИХ ТЕМПЕРАТУР

6.1. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів

В основі набуття рослинними організмами стійкості до екстремальних температур лежать структурні та фізіолого–біохімічні зміни в їх клітинах, обумовлені як специфічними, так і неспецифічними реакціями на дію несприятливих чинників зовнішнього середовища [177]. Однією з перших неспецифічних відповідей водоростей на вплив різних стресових чинників, у тому числі високої температури, є збільшення рівня активних форм кисню (АФК), які ініціюють процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [54, 79]. Надмірна активація ПОЛ у несприятливих умовах середовища супроводжується різноманітними модифікаціями метаболізму рослин, котрі зумовлені як безпосереднім окисненням ліпідів мембран, так і накопиченням продуктів ліпопероксидації та їхньою взаємодією з клітинними макромолекулами [36]. Проте, слід відмітити, що такі зміни є одним з найбільш інформативних показників для оцінки ступеня впливу різних абіотичних чинників на водорості [149, 254]. Тому нами було проведено експериментальне дослідження щодо впливу короткочасного високотемпературного стресу на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у деяких видів Cyanoprokaryota та Chlorophyta.

Одними із найбільш ранніх молекулярних продуктів ПОЛ є дієнові кон'югати (ДК) [83]. Отримані експериментальні дані свідчать, що після короткочасної теплової обробки у клітинах ціанопрокаріоти *A. cylindrica* спостерігалось незначне зниження вмісту цих продуктів (на 10 % відносно контролю), або вони досить швидко перетворилися у гідропероксиди ліпідів

(ГПЛ). Встановлено, що у досліджуваної ціанопрокаріоти в умовах впливу стресового чинника концентрація ГПЛ підвищилася на 21 % порівняно з контролем (табл. 6.1).

Таблиця 6.1.

Вміст продуктів ПОЛ у біомасі представників Суанoprokaryota за короткочасного впливу високотемпературного стресу

Культури водоростей	Дієнові кон'югати, мкМ/мг ліп., M±m	Гідроперокси ліпідів, у.о./мг ліп., M±m	Малоновий диальдегід, мкМ/мг ліп., M±m
<i>Anabaena cylindrica</i>			
Контроль	0,2311±0,0187	2,4425±0,1396	0,0496±0,0048
Дослід	0,2094±0,0313	2,9503±0,3974	0,0779±0,0051
<i>Phormidium autumnale</i> f. <i>uncinata</i>			
Контроль	0,4297±0,0099	3,9401±0,3709	0,0739±0,0049
Дослід	0,1709±0,0259	1,4824±0,0751	0,0283±0,0023
<i>Microcystis aeruginosa</i>			
Контроль	0,1256±0,0007	0,5889±0,0050	0,0983±0,0008
Дослід	0,1176±0,0042	0,5518±0,0028	0,1315±0,0031

Ступінь ліпідної пероксидації у рослинних організмів найчастіше корелює з нагромадженням малонового диальдегіду (МДА) – кінцевого стабільного продукту ПОЛ [91]. У *A. cylindrica* за впливу високотемпературного стресу його рівень вірогідно зріс відносно контролю (на 57%). МДА є високотоксичною сполукою і здатний взаємодіяти з вільними аміногрупами білків та компонентами фосфоліпідів, що може призвести до зміни властивостей як мембран загалом, так і окремих їхніх складових [79]. Відомо, що його вміст у клітинах рослин є одним із

найважливіших показників їх стійкості до дії стресових чинників [29]. Отже, накопичення МДА у ціанопрокаріоти свідчить про інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів. Збільшення продуктів ПОЛ у клітинах може, з одного боку, свідчити про пошкодження, а з іншого – бути індуктором захисних реакцій [37].

Вважають, що активація ПОЛ за високотемпературного стресу пов'язана, в першу чергу, із порушенням функціонування електронно-транспортного ланцюга фотосинтезу. Адже саме там утворення активних кисневих метаболітів відбувається найбільш інтенсивно [66].

У *Ph. autumnale* f. *uncinata* спостерігалася протилежна картина в характері перебігу ПОЛ за впливу підвищеної температури. Так, після дії даного стресового чинника у ціанопрокаріоти спостерігалася значне інгібування процесів ПОЛ, яке виражалось в зниженні вмісту молекулярних продуктів ліпопероксидації: ДК – на 60 %, ГПЛ та МДА – на 62 % порівняно з контрольними показниками (табл. 6.1). Відомо, що суттєва різниця в розвитку ПОЛ спостерігається у організмів із різною сприйнятливістю до впливів: різка активація у чутливих і гальмування у стійких (толерантних) видів [45].

У *M. aeruginosa* за впливу підвищеної температури вміст ДК та ГПЛ був дещо нижчим, ніж у контролі, тоді як концентрація МДА, навпаки, більшою на 34 %. Підвищення вмісту МДА у клітинах досліджуваної водорості свідчить про посилення вільнорадикальних окиснювальних процесів.

Результати досліджень свідчать, що у зеленої водорості *T. caudatum* після короткочасного впливу високотемпературного стресу концентрація ДК зменшилася на 14 %, що, на нашу думку, знову ж таки, могло бути пов'язано із їх швидким перетворенням на ГПЛ. Виявлено, що вміст останніх підвищився на 25 % відносно контролю. Слід зазначити, що рівень МДА у дослідних варіантах практично не відрізнявся від контрольних значень (табл. 6.2).

Таблиця 6.2.

**Вміст продуктів ПОЛ в біомасі представників Chlorophyta за
короткочасного впливу високотемпературного стресу**

Культури водоростей	Дієнові кон'югати, мкМ/мг ліп., M±m	Гідроперокси ліпідів, у.о./мг ліп., M±m	Малоновий диальдегід, мкМ/мг ліп., M±m
<i>Tetraedron caudatum</i>			
Контроль	0,1155±0,0005	0,2108±0,0006	0,0272±0,0005
Дослід	0,0995±0,0047	0,2640±0,0064	0,0279±0,0012
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>			
Контроль	0,1573±0,0071	0,3975±0,0058	0,0161±0,0007
Дослід	0,0886±0,0042	0,3589±0,0178	0,0139±0,0004

У іншої зеленої водорості – *D. brasiliensis* в умовах впливу підвищеної температури спостерігалася тенденція зниження вмісту усіх досліджуваних продуктів ПОЛ. Так, кількість первинних продуктів ПОЛ – ДК та ГПЛ – зменшилася на 44 та 10 % відповідно, а вміст вторинного продукту пероксидного окиснення – МДА знизився на 14 % порівняно з контролем (табл. 6.2), що свідчить про уповільнення вільнорадикальних окиснювальних процесів у клітинах досліджуваної водорості та ефективну роботу систем захисту, які перешкоджають розвитку оксидативного стресу.

Таким чином отримані дані свідчать про неоднаковий ступінь ліпопероксидації у різних видів водоростей. Найбільш стійкою з досліджуваних ціанопрокаріот до впливу короткочасного теплового стресу виявилася *Ph. autumnale* f. *uncinata* – домінант перифітона дніпровських водосховищ в літній сезон [124], та найбільш чутливими – збудники «цвітіння» води *M. aeruginosa* та *A. cylindrica*. Обидва види зелених

водоростей виявилися досить стійкими до короточасного впливу підвищеної температури.

6.2. Зміни активності ферментів антиоксидантної системи захисту

Як уже згадувалося вище, за впливу несприятливих чинників середовища в клітинах усіх живих організмів, в тому числі водоростей, розвивається окиснювальний стрес, пов'язаний з надпродукцією АФК. Знешкодження АФК ефективно забезпечується багатоступінчастою системою антиоксидантного захисту, в якій беруть участь специфічні ферменти та низькомолекулярні сполуки. До найважливіших ферментів детоксикації АФК та їх продуктів відносяться супероксиддисмутаза, каталаза і глутатіонпероксидаза [209, 274]. Їх функціонування спрямоване на зниження рівня окиснювального стресу і тим самим на запобігання негативних наслідкам його дії [25]. Зміни активності цих ферментів можуть бути адекватною оцінкою фізіологічного стану гідробіонтів у стресових умовах [122].

6.2.1. Активність супероксиддисмутази

Супероксиддисмутаза (СОД) забезпечує первинний захист клітин водоростей від окиснювальної деструкції, каталізуючи реакцію дисмутації супероксидного аніон–радикалу, і тим самим зупиняючи процес окиснення клітинних макромолекул ще на стадії ініціювання [133, 209]. Активність СОД за дії несприятливих чинників навколишнього середовища, при збільшенні утворення активних кисневих метаболітів, може змінюватися по-різному в залежності від тривалості й інтенсивності дії стресора, а також від стійкості водорості та її віку [122].

Згідно з одержаними результатами, у ціанопрокаріоти *Aph. planctonica* максимальна активність СОД відмічалася в умовах впливу температури 20

°C (рис. 6.2.1.1). На експоненціальній фазі її росту (14-а доба) за вказаного температурного режиму середовища рівень активності СОД був вищим від зареєстрованого за 26 °C у 8,1 рази, а з виходом культури на стаціонарну фазу росту (28-а доба) лише у 1,4 рази. Це свідчить про те, що у молодшої за віком культури зміни функціонування ключового ферменту антиоксидантного захисту були значно істотніші, ніж у старшої.

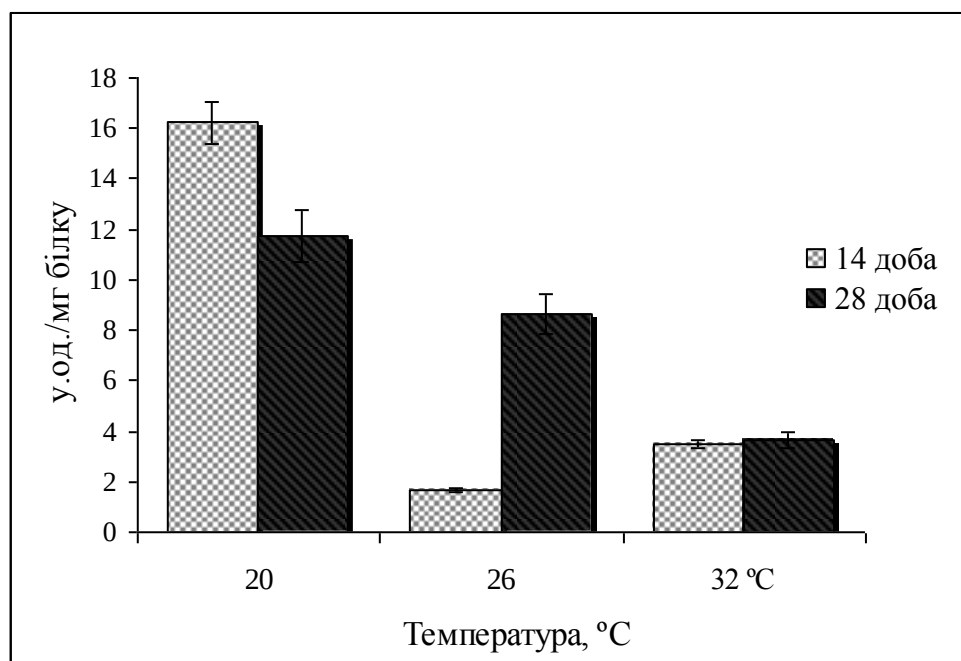


Рис. 6.2.1.1. Зміни активності супероксиддисмутази у *Aphanocapsa planctonica* за різних температур.

Слід зауважити, що за температури 20 °C порівняно з 26 °C у досліджуваної ціанопрокаріоти спостерігалось пригнічення росту та біосинтезу фотосинтетичних пігментів (див. розділ 3), а також зниження активності ключових ферментів дихального та азотного метаболізму (розділ 4, 5). Тому збільшення активності СОД у клітинах *Aph. planctonica* за цих умов могло бути обумовлено активацією її латентних форм і/або синтезом нових молекул у відповідь на розвиток окиснювального стресу [8].

За температури 32 °C у *Aph. planctonica* на 14-ту добу культивування активність СОД була значно вищою, ніж при 26 °C, проте нижчою, ніж при

20 °С. На 28-у добу росту культури за досліджуваної температури мала місце тенденція помітного пригнічення активності цього ферменту.

У *Ph. autumnale* f. *uncinata*, на відміну від *Aph. planctonica*, за температури 20 °С порівняно з 26 °С протягом досліджуваного періоду активність СОД змінювалася приблизно однаково. Як видно із даних, представлених на рис. 6.2.1.2, на 14-у добу культивування за нижчої із досліджуваних температур активність СОД була більшою у 4 рази, а на 28-у добу – у 3,5 рази.

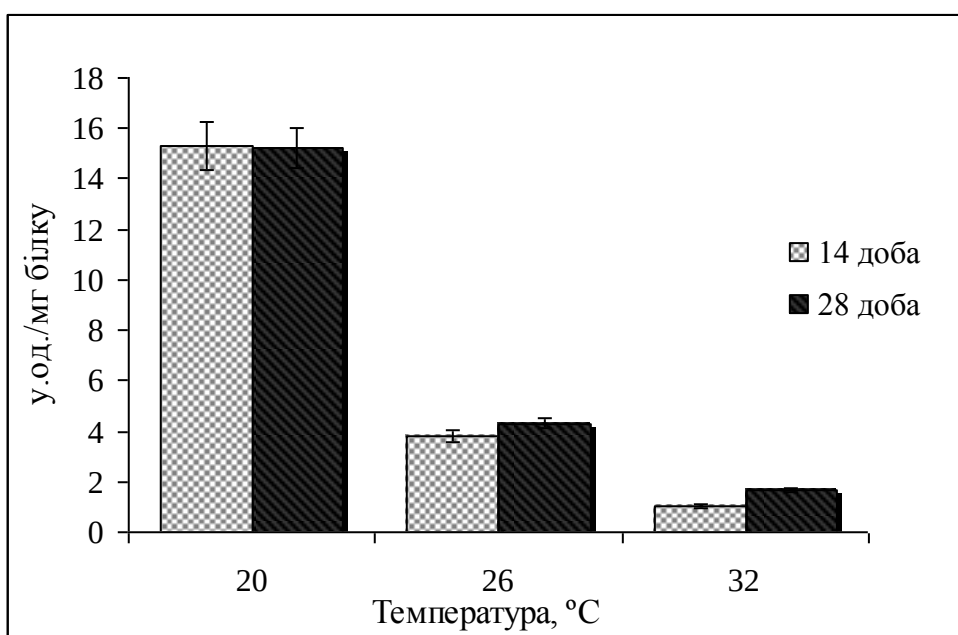


Рис. 6.2.1.2. Зміни активності супероксиддисмутази у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за різних температур.

Оскільки в умовах впливу мінімальної температури у цього виду Cyanoprokaryota (як і у *Aph. planctonica*) спостерігалось зниження вмісту пігментів та активності СДГ, ЦХО і ГДГ, то підвищення функціонування СОД при цьому, на нашу думку, пов'язано зі зростанням внутрішньоклітинної концентрації АФК.

За температури 32 °С активність досліджуваного ферменту антиоксидантного захисту у культури *Ph. autumnale* f. *uncinata* була мінімальною. На 14-у добу її росту вона була меншою від зареєстрованої за

20 та 26 °C відповідно у 15 і 3,7 рази, а на 28-у добу – у 9,2 і 2,6 рази відповідно.

Причиною зниження активності СОД у обох видів Cyanoprokaryota за температури 32 °C може бути виснаження пулу ферменту внаслідок посиленого його витрачання на «гасіння» супероксидного радикалу. Крім того зменшення активності ферменту може бути наслідком зниження синтезу і (або) підвищення деградації його молекул. Інактивація та деградація СОД відбувається за участю активних кисневих метаболітів: гідроксильних радикалів та пероксиду водню. Останній може відновлювати Cu^{+2} в активному центрі ферменту до Cu^{+} , який, взаємодіючи із новою молекулою пероксиду водню, утворює $\text{Cu}^{+2}\text{OH}^{\bullet}$. Цей радикал викликає окиснювальну модифікацію амінокислотних послідовностей в активному центрі ферменту, що призводить до його денатурації [8].

Проведені експерименти показали, що у зеленої мікроводорості *D. communis*, як і у досліджуваних видів Cyanoprokaryota, за температури 26 °C активність СОД була значно нижчою, ніж при 20 °C (рис. 6.2.1.3). На 14-у добу культивування значення цього показника були меншими у 2,6 рази, а на 28-у добу – у 2,1 рази. Слід зауважити, що ростові показники у *D. communis*, на відміну від досліджуваних видів ціанопрокаріот, за температури 20 °C були вищими, ніж за температури 26 °C (див. розділ 3). Зниження активності СОД у відповідь на збільшення температури культивування пов'язано, ймовірно, із зростанням в клітинах водоростей концентрації пероксиду водню, оскільки в таких умовах активуються ферменти, які його розщеплюють, та інактивуються системи, які його виробляють [10, 291].

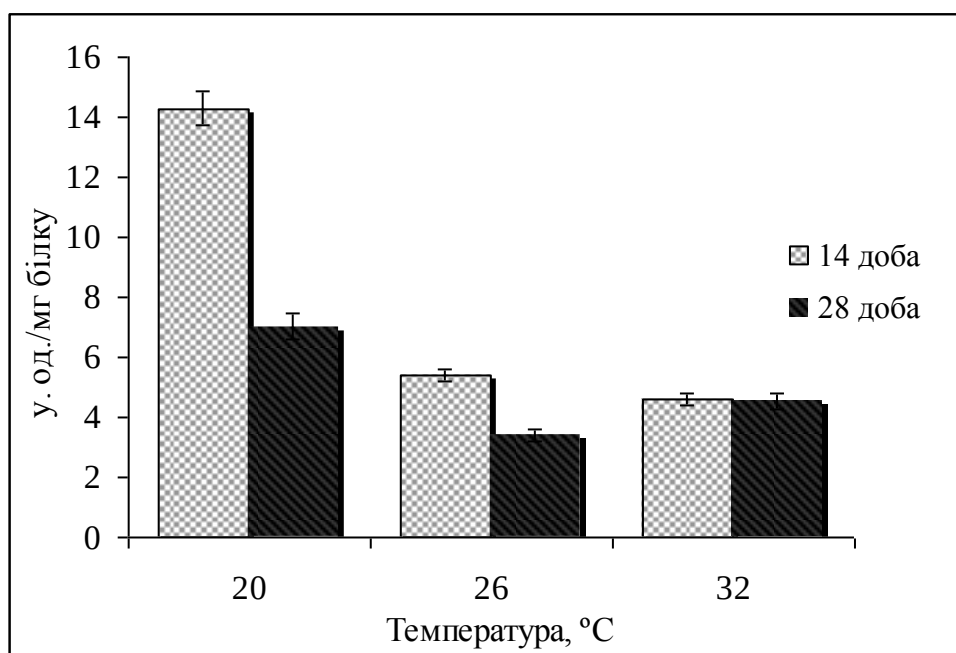


Рис. 6.2.1.3. Зміни активності супероксиддисмутази у *Desmodesmus communis* за різних температур.

За максимальної температури (32 °C) на 14-у добу росту культури *D. communis* активність досліджуваного ферменту антиоксидантного захисту була меншою від зареєстрованої за 20 °C та 26 °C у 3,1 та 1,2 рази відповідно. На 28-у добу її росту величина цього показника була меншою, ніж за 20 °C – у 2,1 рази, проте більшою, ніж за 26 °C – у 1,3 рази.

Встановлено, що у *T. caudatum* за досліджуваних температур спостерігалася дещо інша картина змін активності СОД, ніж у *D. communis* (рис. 6.2.1.4). У відповідь на збільшення температури вирощування від 20 °C до 26 °C на 14-у добу культивування у *T. caudatum*, як і у *D. communis*, відмічалася зниження функціональної активності СОД (у 3,3 рази), що знову ж таки, на нашу думку, пов'язано із зростанням внутрішньоклітинної концентрації пероксиду водню. Разом з тим на 28-у добу у цього виду Chlorophyta, на відміну від *D. communis*, реєструвалося зростання величини досліджуваного показника. Підвищення активності ферменту свідчить про його важливу роль в адаптації *T. caudatum* до вказаних температурних умов.

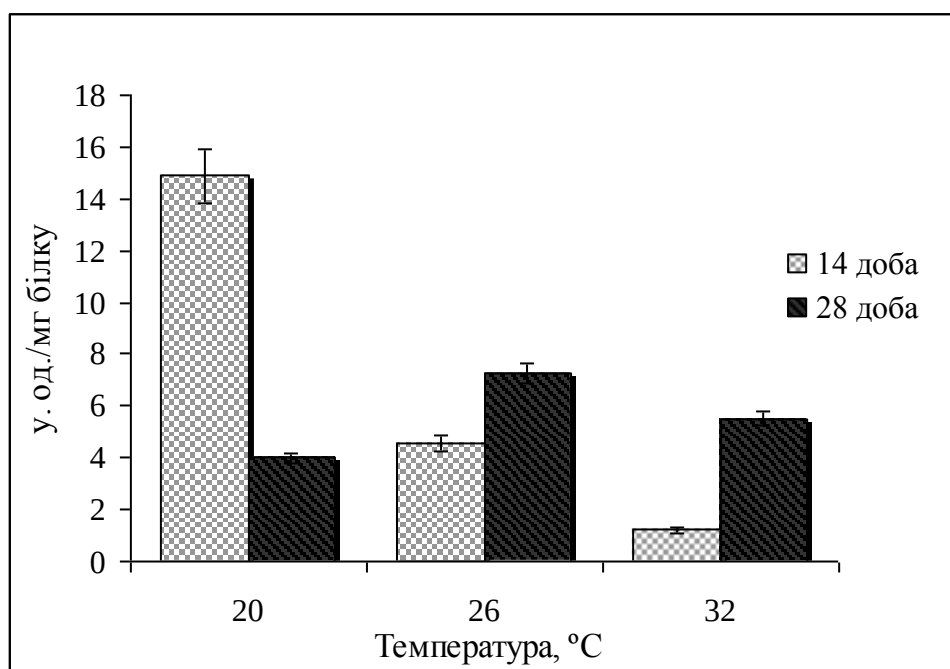


Рис. 6.2.1.4. Зміни активності супероксиддисмутази у *Tetraedron caudatum* за різних температур.

За температури 32 °C порівняно з 20 °C у *T. caudatum* спостерігалася аналогічна тенденція зміни активності СОД, як і за 26 °C. На 14-у добу культивування мікроводорості активність ферменту була меншою, ніж за 20 °C, у 12 разів, а на 28-у добу, навпаки, більшою – у 1,4 рази, що очевидно є однією з її реакцій-відповідей на вплив несприятливих температурних умов.

6.2.2. Активність каталази

Як відомо, в результаті супероксиддисмутазної реакції утворюється пероксид водню (H_2O_2) – біологічно активний інтермедіат кисню, тому за участю СОД антиоксидантний захист забезпечується не повністю. У підтриманні фізіологічно-нормального рівня H_2O_2 в клітині першочергову роль відіграє каталаза (КАТ) [89]. Цей фермент здійснює розщеплення пероксиду водню до кисню та води, запобігаючи тим самим його токсичному ефекту [24].

Аналіз одержаних результатів свідчить, що у ціанопрокаріот в умовах впливу досліджуваних температурних режимів зміни активності КАТ порівняно зі змінами активності СОД носили, переважно, протилежний характер (рис. 6.2.1.1, 6.2.1.2, 6.2.2.1, 6.2.2.2).

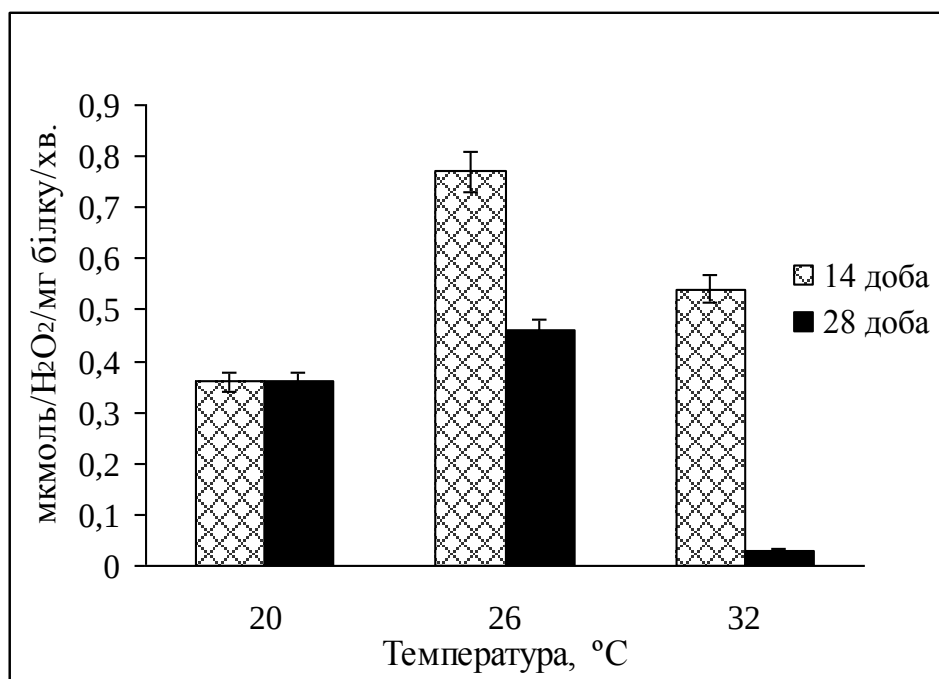


Рис. 6.2.2.1. Активність каталази у *Aphanocapsa planctonica* за різних температур.

За температури 20 °C у *Aph. planctonica* активність КАТ була нижчою, ніж за температури 26 °C. На 14-у добу культивування величина цього показника була меншою у 2,1 рази, а на 28-у добу – у 1,3 рази. Отже за вказаних температурних умов на тлі значного підвищення активності СОД відбувається зниження активності КАТ. Відомо, що для каталази супероксидний аніон-радикал є негативним ефектором, а пероксид водню – позитивним, тоді як для СОД – навпаки [32].

У *Ph. autumnale* f. *uncinata* за мінімальної температури спостерігалася аналогічна тенденція зміни активності КАТ, як у *Aph. planctonica*. Згідно з одержаними результатами, на 14-у добу росту *Ph. autumnale* f. *uncinata* за цієї

температури значення досліджуваного показника були меншими від зареєстрованих за 26 °C у 2,2 рази, а на 28-у добу – у 1,5 рази.

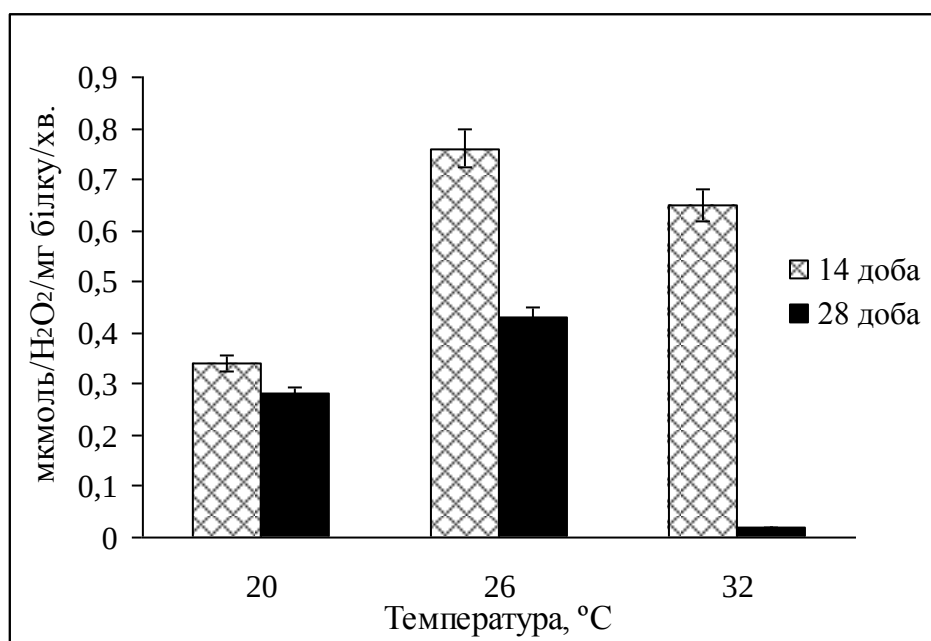


Рис. 6.2.2.2. Активність каталази у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за різних температур

За температури 32 °C на експоненціальній фазі росту у обох культур Суанпроkaryota активність КАТ була вірогідно вища, ніж при 20 °C, але нижча, ніж при 26 °C. З виходом їх на стаціонарну фазу росту за цієї температури спостерігалася значне зниження величини вказаного показника порівняно із зареєстрованою за інших досліджуваних. При цьому у *Aph. planctonica* рівень активності КАТ був меншим, ніж при 26 °C у 15 разів, а у *Ph. autumnale* f. *uncinata* – в 24 рази. Зниження активності каталази, згідно О.В. Ситар [99], може бути викликано пригніченням експресії її гену внаслідок підвищеного генерування АФК.

У представників Chlorophyta *D. communis* та *T. caudatum* на 14-у добу культивування за температури 26 °C порівняно з 20 °C активність КАТ була вищою у 1,5 та 1,8 рази відповідно (рис. 6.2.2.3, 6.2.2.4).

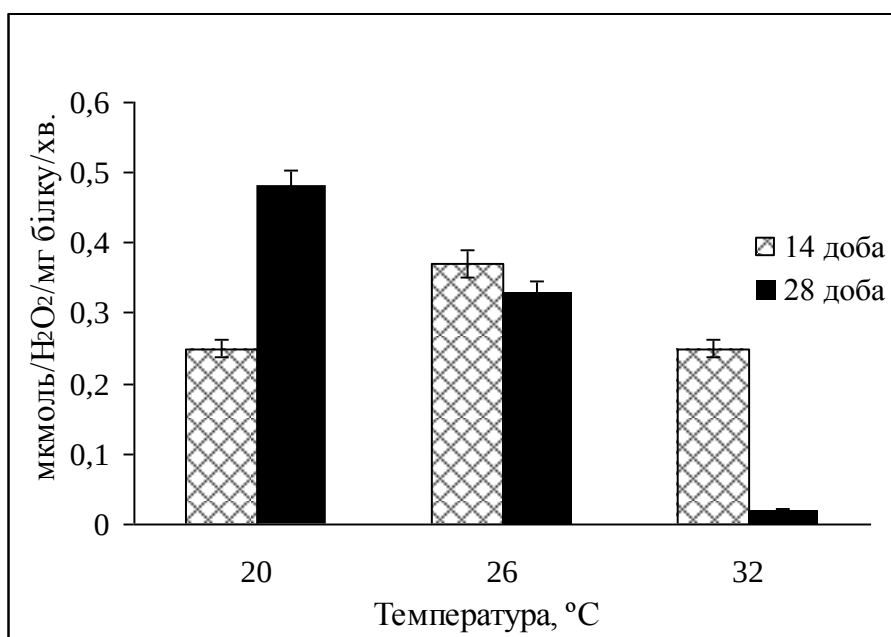


Рис. 6.2.2.3. Активність каталази у *Desmodesmus communis* за різних температур.

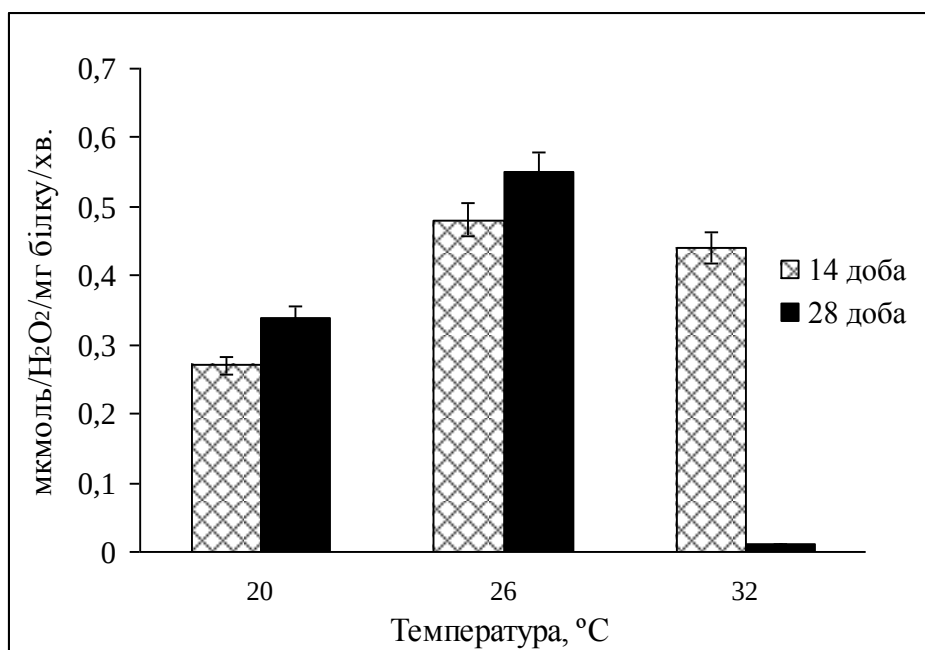


Рис. 6.2.2.4. Активність каталази у *Tetraedron caudatum* за різних температур.

Зростання активності ферменту може бути пов'язано з виконанням функції нейтралізації пероксиду водню, що накопичувався в цей період. Необхідно зауважити, що каталаза має низьку спорідненість до субстрату

(H₂O₂) і починає працювати тільки при достатньо високому його вмісті [20, 173]. Згідно з одержаними даними, активність СОД у водоростей за 26 °С, навпаки, була істотно меншою, ніж за 20 °С. Це вказує на те, що у них зміни активності КАТ та СОД не співпадають, і знаходяться в протифазі.

Зі збільшенням віку культури *D. communis* та тривалості впливу вказаної температури до 28-и діб активність КАТ була нижчою від зареєстрованої за 20 °С у 1,6 рази. Разом з тим у *T. caudatum* за цих умов, навпаки, відмічалось зростання величини досліджуваного показника у 2 рази. Слід відмітити, що активність СОД у *T. caudatum* у відповідь на збільшення температури вирощування з 20 до 26 °С також підвищилася, що свідчить про важливу роль обох ферментів антиоксидантного захисту в адаптації водорості до цих температурних умов.

За температури 32 °С на 14-у добу культивування у *D. communis* величини показників активності КАТ залишалися практично на одному рівні із зареєстрованими за 20 °С, а у *T. caudatum* – були вищими у 1,6 рази. Водночас на 28-у добу у обох зелених водоростей спостерігалось пригнічення функціонування КАТ, що, очевидно, пов'язано із виснаженням пулу ферменту у старіших за віком культур.

6.2.3. Активність глутатіонпероксидази

У детоксикації активних форм кисню, що утворюються при оксидативному стресі, бере участь ще один важливий антиоксидантний фермент – глутатіонпероксидаза (ГПО), яка каталізує реакцію розщеплення пероксиду водню і органічних пероксидів без утворення вільних радикалів, використовуючи в якості донора водню відновлений глутатіон [84].

Найвищі показники активності ГПО у ціанопрокаріот реєструвалися за температури 26 °С (рис. 6.2.3.1, 6.2.3.2). В умовах впливу мінімальної температури (20 °С) активність ГПО, як і КАТ, була пригнічена. Так, на 14-у

добу культивування у *Aph. planctonica* активність ГПО була нижчою, ніж за 26 °C у 1,2 рази, а на 28-у добу – 1,7 рази.

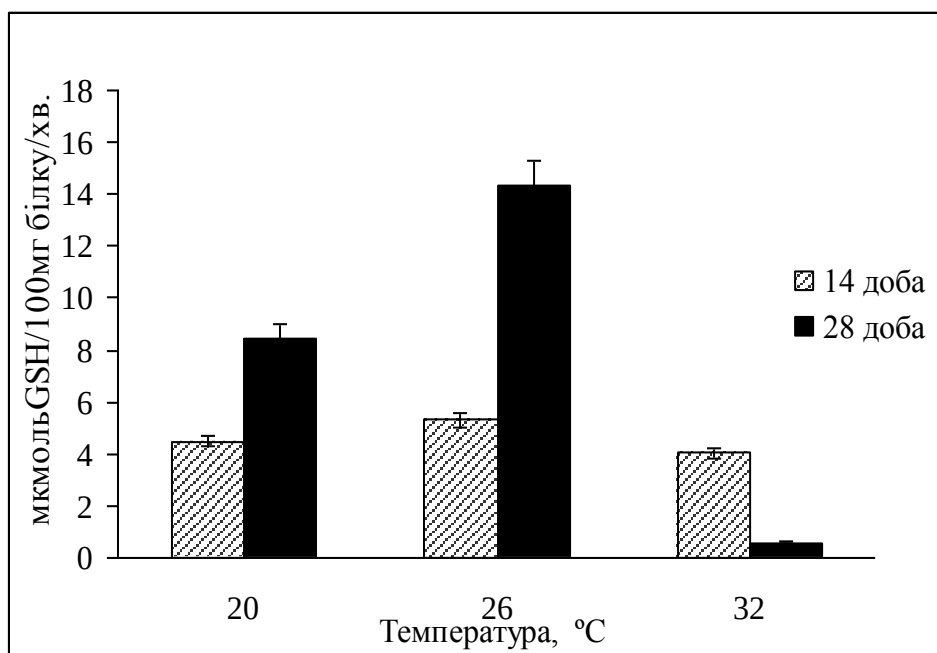


Рис. 6.2.3.1. Зміни активності глутатіонпероксидази *Aphanocapsa planctonica* за різних температур.

У *Ph. autumnale* f. *uncinata* протягом усього періоду вирощування за температури 20 °C величина досліджуваного показника була меншою, ніж за 26 °C у 1,8 рази.

Встановлено, що за температури 32 °C рівень активності ГПО у обох представників Cyanoprokaryota був мінімальним. У *Aph. planctonica* на експоненціальній фазі росту він був меншим від зареєстрованого за 20 та 26 °C у 1,1 та 1,3 рази відповідно, а у *Ph. autumnale* f. *uncinata* у 1,4 та 2,6 рази відповідно. Зі збільшенням віку культур та тривалості впливу досліджуваної температури до 28-и діб функціональна активність ГПО у них практично повністю інгібувалася.

Важливо відмітити, що активність інших досліджуваних ферментів антиоксидантного захисту за температури 32 °C також була знижена. Очевидно, в цих умовах ключова роль в захисті метаболізму від АФК

належить низькомолекулярним антиоксидантам, оскільки на 28-у добу росту культур ціанопрокаріот за температури 32 °С істотно збільшується сумарний вміст каротиноїдів та фікобіліпротейнів – с-фікоеритрину, с-фікоціаніну, та алофікоціаніну (розділ 3).

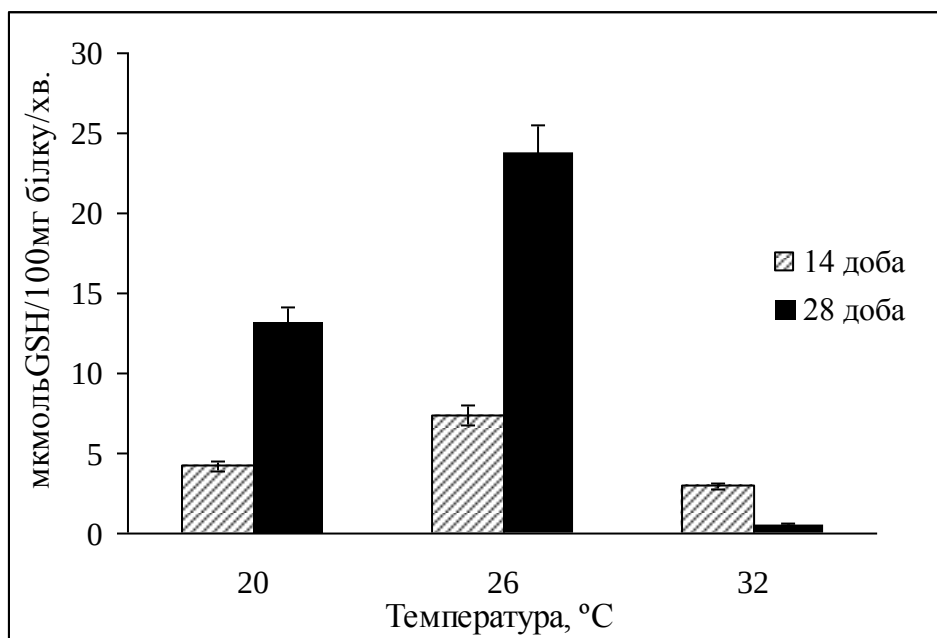


Рис. 6.2.3.2. Зміни активності глутатіонпероксидази у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за різних температур.

Як видно з даних, наведених на рис. 6.2.3.3, у *D. communis* на 14-у добу культивування за температури 26 °С активність ГПО практично не змінилася щодо зареєстрованої при 20 °С, а на 28-у добу помітно збільшилася (в 2,2 рази). Проте слід відмітити, що динаміка активності ГПО у мікроводорості при досліджуваній температурі не співпадала з динамікою активності КАТ (рис. 6.2.2.3).

У *T. caudatum* у відповідь на збільшення температури вирощування з 20 °С до 26 °С активність ГПО, як і КАТ, зростає (рис. 6.2.2.4, 6.2.3.4). На 14-у добу росту культури за температури 26 °С порівняно з 20 °С реакційна здатність ферменту була більшою в 1,4 рази, а на 28-у – в 2 рази. Відомо, що спорідненість ГПО до пероксиду водню вища, ніж КАТ, тому перша більш ефективна при низьких концентраціях субстрату, тоді як в захисті клітин від

оксидативного стресу, викликаного високими його концентраціями, ключова роль належить каталазі [118].

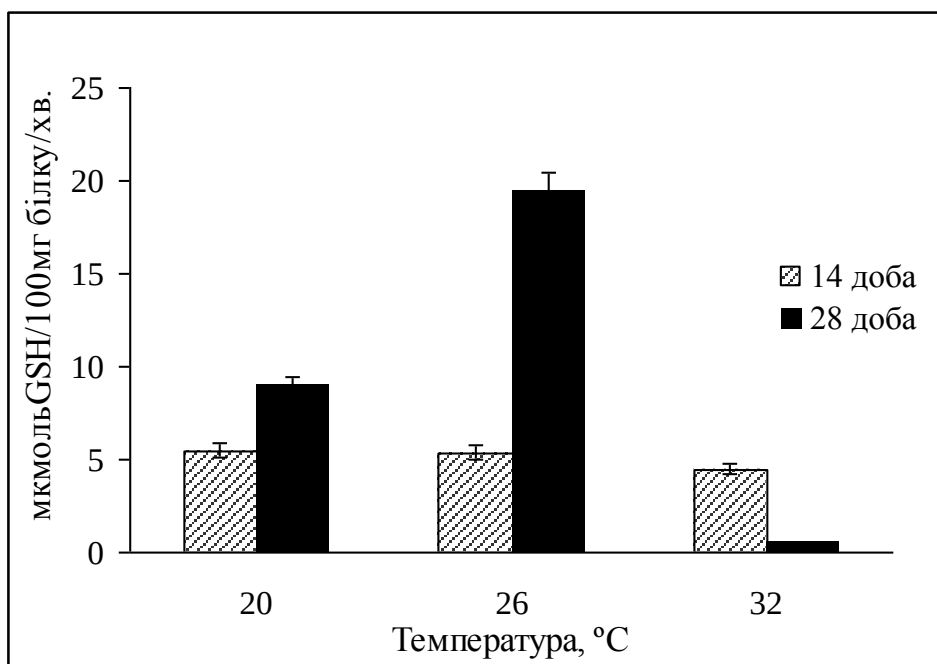


Рис. 6.2.3.3. Зміни активності глутатіонпероксидази у *Desmodesmus communis* за різних температур.

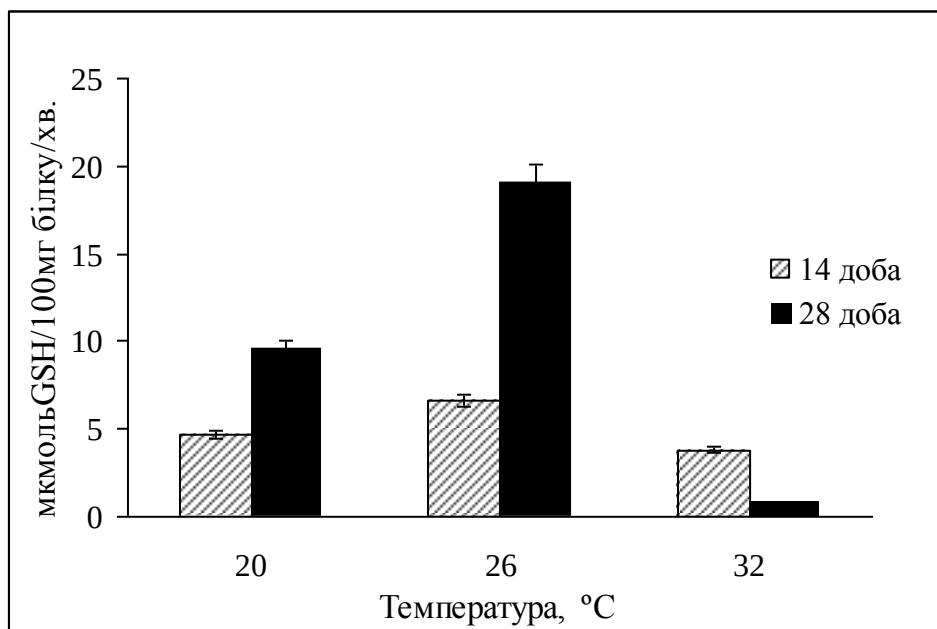


Рис. 6.2.3.4. Зміни активності глутатіонпероксидази у *Tetraedron caudatum* за різних температур.

ГПО знешкоджує не тільки пероксид водню, але й органічні гідропероксиди вільних жирних кислот, нуклеотидів, нуклеїнових кислот, білків [173]. На нашу думку, значна індукція ГПО у культур *D. communis* та *T. caudatum*, вирощуваних більш тривалий період в умовах підвищеної температури культурального середовища (26 °C), пов'язана саме зі збільшенням вмісту органічних пероксидів в їх клітинах.

За температури 32 °C на 14-у добу культивування у обох видів Chlorophyta активність досліджуваного ферменту антиоксидантного захисту практично залишалася на одному рівні із зареєстрованою при 20 °C. Разом з тим, у старіших за віком культур (28-доба) *D. communis* та *T. caudatum* відмічалось значне інгібування функціонування ГПО. Слід відмітити, що активність КАТ у них також була пригнічена. Зменшення функціональної активності зазначених ферментів свідчить про виснаження їх пулу і пригніченні його синтезу в процесі експерименту. Очевидно, ключову роль в адаптації до несприятливої температури виконують низькомолекулярні антиоксиданти, зокрема, каротиноїди. Адже їх вміст у біомасі зелених водоростей, як і у ціанопрокаріот, за цих умов збільшився. Існує припущення, що антиоксиданти – критичні компоненти захисту рослин від оксидативного стресу, і від їхнього стану залежить подальша доля клітин в екстремальних умовах: збереження функцій чи окиснювальна деструкція [130].

Висновки до розділу 6

1. За короткочасної дії підвищеної температури (38 °C порівняно з 26 °C) у *A. cylindrica* та *M. aeruginosa* спостерігалось посилення процесів ліпопероксидації, що пов'язане з вірогідним збільшенням вмісту їх кінцевого стабільного продукту – малонового діальдегіду. У *Ph. autumnale* f. *uncinata* та *D. brasiliensis* в умовах впливу стресового чинника реєструвалось інгібування процесів ліпопероксидації, а у *T. caudatum* їх

інтенсивність практично не змінювалася відносно контролю, що свідчить про ефективну роботу систем захисту, які перешкоджають розвитку оксидативного стресу.

2. Активність ферментів антиоксидантного захисту залежить від температури, віку культури та її видової приналежності.
3. За максимальної із досліджуваних температур (32 °C) функціональна активність ферментів-антиоксидантів на стаціонарній фазі росту у представників Cyanoprokaryota (*Aph. planctonica*, *Ph. autumnale* f. *uncinata*) та Chlorophyta (*D. communis*, *T. caudatum*) суттєво знижується. Очевидно, в цих умовах ключова роль в захисті метаболізму від активних форм кисню належить низькомолекулярним антиоксидантам.
4. За температур 20 та 26 °C як у культур Cyanoprokaryota, так і у культур Chlorophyta, зміни активності СОД порівняно з КАТ, в більшості випадків, носили протилежний характер. Це пояснюється тим, що для каталази супероксидний аніон-радикал є негативним ефектором, а H_2O_2 позитивним, тоді як для СОД – навпаки.
5. Зміни активності ГПО при температурах 20, 26 і 32 °C у всіх досліджуваних видів водоростей переважно збігалися з динамікою активності КАТ, що можна пояснити участю обох ферментів в розщепленні пероксиду водню.
6. Функціональна активність ГПО у старіших за віком культур Chlorophyta і Cyanoprokaryota за температур 20 та 26 °C значно вища порівняно з більш молодими, що пов'язано, очевидно, зі збільшенням в їх клітинах вмісту органічних пероксидів по мірі старіння культур. При максимальній з досліджуваних температур (32 °C) активність ферменту у старіших культур практично повністю пригнічувалася.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Дослідження змін фізіолого-біохімічних показників функціонального стану зелених водоростей та ціанопрокаріот за різних температур було важливим для виявлення ланок метаболічних процесів, що найбільш оперативно реагують на вплив несприятливих умов, а також відповідають за стійкість видів. Інформація такого плану становить інтерес для розкриття механізмів адаптації автотрофної ланки водних екосистем до потепління клімату, яке характеризується збільшенням як середніх, так і максимальних температур води влітку – в період інтенсивної вегетації фітопланктону.

Одним із зовнішніх проявів життєдіяльності будь якого рослинного організму є інтенсивність його росту. З літератури відомо, що для кожного виду водоростей характерний свій оптимальний температурний діапазон існування [259]. Узагальнення отриманих нами результатів показало, що максимальне накопичення біомаси зелених водоростей *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* в діапазоні температур 20-38 °C спостерігалось за температури культивування 20 °C, що, в свою чергу, свідчить про найвищу їх продуктивність в цих умовах. За температур 26 та 32 °C ріст обох культур був пригнічений, а за 38 °C – практично припинився. Зелена мікроводорість *Tetraedron caudatum* за показниками сухої маси виявилася більш чутливою до впливу екстремально високих температур, ніж *Desmodesmus communis*.

Як відомо, фотосинтетичний апарат водоростей один із перших реагує на зміну температури середовища існування [18]. Важливою характеристикою фотосинтетичного апарату, що визначає його функціональну активність, є вміст фотосинтетичних пігментів [107]. Одержані результати свідчать, що вміст хлорофілу *a* у біомасі представників Chlorophyta за температури 20 °C був вищим, ніж при 26 та 32 °C, та мінімальним за температури 38 °C. Варто зауважити, що динаміка вмісту

хлорофілу *a* у *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* за досліджуваних температур відповідала динаміці сухої маси.

Зниження вмісту хлорофілу *a* у водоростей зі збільшенням температури їх вирощування свідчить про пригнічення у них функціональної активності фотосинтетичного апарату.

Зміни сумарного вмісту каротиноїдів порівняно з хлорофілом *a* у культур за досліджуваних температур загалом носили протилежний характер. За температур культивування 26 та 32 °C у них простежувалося більше накопичення жовтих пігментів, ніж за 20 °C. Відомо, що ці пігменти крім світлозбиральної виконують ще захисну функцію. Каротиноїди, як низькомолекулярні компоненти антиоксидантної системи, є ефективними «гасниками» синглетного кисню та інших активних форм кисню. В літературі є відомості, що накопичення каротиноїдів у водоростей збільшується зі зростанням температури через підвищення швидкості процесів вільнорадикального окиснення або активацію біосинтезу ферментів [193]. Деякі автори вважають, що ключова роль в адаптації водоростей до теплового стресу належить ксантофілам [183, 288, 290]. Показано, що у зеленої водорості *Haematococcus pluvialis* Flotow у відповідь на підвищення температури середовища з 25 до 35 °C спостерігається істотне збільшення вмісту астаксантину [290]. Згідно з отриманими нами результатами, зростання вмісту каротиноїдів у біомасі зелених водоростей зі збільшенням температури їх вирощування відбувається лише до певної межі, бо за 38 °C у *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* відмічалось уже пригнічення біосинтезу жовтих пігментів, як і хлорофілу *a*. С.С. Заргар та співавтори також показали, що за екстремально високої температури (39 °C) у *Scenedesmus quadricauda* (= *Desmodesmus communis*) спостерігається істотне зниження вмісту фотосинтетичних пігментів [302].

Порушення в пігментній системі рослин, які виникають під впливом високої температури, призводять до зменшення ефективності міграції енергії збудження від пігментів-світлозбиральників до реакційних центрів

фотосистем, а це супроводжується зниженням фотосинтетичної активності [76]. Слід відмітити, що однією з причин зниження інтенсивності фотосинтезу водоростей в умовах теплового стресу є також інгібування активності ферментів, що залучені до цього процесу [214].

Таким чином аналіз зміни показників інтенсивності росту та динаміки вмісту фотосинтетичних пігментів свідчить про те, що для досліджуваних зелених водоростей найбільш сприятливою є температура 20 °C. Збільшення температури їх вирощування призводить до гальмування фотосинтезу та ростових процесів.

Вважають, що успішне пристосування рослинного організму до умов середовища відбувається завдяки регуляторному узгодженню процесів фотосинтезу та дихання [86]. Спільною ознакою цих основних фізіологічних процесів є те, що їх головна функція полягає у забезпеченні рослини асимілятами й енергією, які утворюють єдиний енергетичний цикл.

У своїх експериментах зміни в дихальному метаболізмі у досліджуваних культур зелених водоростей ми оцінювали за активністю ключових ферментів цього процесу – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази. Встановлено, що на рівні СДГ за температур 20, 26 та 32 °C істотних змін у функціонуванні дихального електронно-транспортного ланцюга не відбувалося. Як відомо, СДГ є не лише компонентом дихального ланцюга мітохондрій, але й циклу Кребса, де вона каталізує реакцію окиснення сукцинату до фумарату. На основі одержаних результатів можна стверджувати, що за вказаних температур протягом досліджуваного періоду у зелених водоростей також не спостерігалось суттєвих перебудов у функціонуванні циклу трикарбонових кислот.

Слід відмітити, що ЦХО виявилася більш чутливою до змін температури, ніж СДГ. ЦХО каталізує кінцевий етап преносу електронів на кисень в процесі окисного фосфорилування. Нами показано, що за температур 26 та 32 °C порівняно з 20 °C у *D. communis* та *T. caudatum* на 14-у добу культивування спостерігалася помітне збільшення активності ЦХО.

Згідно з одержаними результатами, активність фотосинтетичного апарату водоростей за цих умов, навпаки, була пригнічена, особливо у *T. caudatum*. Вважають, що при зниженні активності фотосинтетичного апарату домінуюче значення за несприятливих умов має метаболічна трансформація різних ланок дихального метаболізму. Дихання при цьому виступає основним постачальником енергії для активації механізмів захисту до дії стресора [5].

Зі збільшенням віку культур та тривалості впливу досліджуваних температур до 28-и діб спостерігалася інша тенденція. Так, за температури вирощування 26 °С активність ЦХО практично не відрізнялася від зареєстрованої при 20 °С. Натомість в умовах впливу температури 32 °С у обох представників реєструвалася повна інактивація ферменту. Загальновідомим є факт, що цей фермент характеризується високою спорідненістю до кисню. На нашу думку, інактивація ЦХО обумовлена саме дефіцитом кисню, що виникає за цих умов. Збереження високої активності СДГ при цьому, очевидно, пов'язано з функціонування альтернативного шляху дихання у водоростей. Активація альтернативної оксидази на фоні зниження цитохромоксидази у рослин за дії високих температур показана у ряді робіт [267, 292].

Важливим для розуміння адаптивних реакцій водоростей до різних температур було також вивчення активності ферментів азотного метаболізму. Ключовою ланкою азотного обміну є взаємоперетворення α -кетоглутарату і глутамату за участю глутаматдегідрогенази (ГДГ). Згідно з одержаними результатами, у обох зелених водоростей за температури 26 °С, загалом, амінуюча та дезамінуюча активність ГДГ була вищою, ніж за 20 °С. З літературних джерел відомо, що за дії різних несприятливих чинників середовища у рослин відбувається активування амінуючої ГДГ (НАДФН-ГДГ) під впливом ендогенного амонію, концентрація якого значно зростає [255]. З іншого боку збільшення дезамінуючої активності ГДГ (НАДН-ГДГ) вказує на те, що фермент бере участь у підтриманні вуглеводного метаболізму шляхом утворення субстрату для циклу Кребса [28]. За

температури 32 °C у обох видів Chlorophyta активність ГДГ була пригнічена, що свідчить про порушення функціонування глутаматдегідрогеназної системи. Отже в умовах впливу несприятливих температур спостерігаються значні зміни в метаболізмі водоростей.

За впливу високих температур у водоростевих клітинах посилюється генерація активних форм кисню (АФК). Основними джерелами утворення АФК в рослинному організмі є фотосинтетичний та дихальний електронно-транспортний ланцюг [257]. Порушення в їх роботі, що виникають при тепловому стресі, призводять до надмірного накопичення активних кисневих метаболітів (АФК). Зміни в балансі АФК викликають посилення пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та порушення у структурі й функціях клітини. Як відомо, АФК необхідні для перебігу основних метаболічних реакцій в різних клітинних компартментах, тому продукти ПОЛ можуть бути як індикаторами, так і первинними медіаторами стресу [35].

Дослідження у зелених водоростей вмісту основних молекулярних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів та малонового діальдегіду за короткочасової дії теплового стресу показали, що у них за цих умов відбувалося або зниження величини вказаних показників, або істотних змін не спостерігалось, що свідчить про ефективну роботу систем захисту, які перешкоджають розвитку оксидативного стресу.

Відомо, що провідна роль в регуляції рівня АФК та продуктів ПОЛ у водоростевих клітинах належить антиоксидантній системі захисту, компонентами якої є високомолекулярні (супероксиддисмутаза, каталаза, аскорбатпероксидаза, глутатіонпероксидаза тощо) та низькомолекулярні сполуки (каротиноїди, фікобіліпротеїни, токоферолі тощо). На основі проведених досліджень встановлено, що у представників Chlorophyta за вищих температур культивування (32 та 26 °C порівняно з 20 °C) відмічалось загалом посилення функціонування антиоксидантної системи. При цьому, слід відмітити, що ключова роль в захисті клітин водоростей від активних форм кисню за максимальної із досліджуваних температур належала не

ферментам-антиоксидантам – супероксиддисмутази, каталазі та глутатіонпероксидазі, а низькомолекулярним антиоксидантам – каротиноїдам. Про це свідчить посилення вмісту останніх на тлі пригніченої активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

Аналіз отриманих результатів показав, що реакція-відповідь представників Cyanoprokaryota *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata* на вплив досліджуваних температур (20, 26, 32 та 38 °C) культурального середовища відрізнялася від тієї, що спостерігалася у представників Chlorophyta. Максимальна інтенсивність їх росту реєструвалася за вищих температур (26 та 32 °C), ніж у *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum*. Функціональна активність фотосинтетичного апарату ціанопрокаріот за цих температур також була найвищою, про що свідчить високий вміст хлорофілу *a* та каротиноїдів у їх біомасі. Проте, слід відмітити, що за екстремально високої температури 38 °C у *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata*, як і у зелених водоростей, спостерігалася істотне пригнічення росту, а також накопичення хлорофілу *a* та каротиноїдів. При цьому у перифітонної ціанопрокаріоти *Phormidium autumnale* f. *uncinata* ці зміни були менш помітними, ніж у *Aphanocapsa planctonica* та обох видів Chlorophyta. Це свідчить про те, що *Phormidium autumnale* f. *uncinata* серед досліджуваних видів є найбільш стійким до високої температури.

Проведені нами дослідження в літній сезон на фітопланктоні затоки Оболонь Канівського водосховища під час «цвітіння» води Cyanoprokaryota показали, що між вмістом фотосинтетичних пігментів в одиниці біомаси та температурою води існує обернена залежність. Зі збільшенням температури води вміст хлорофілу *a* та каротиноїдів в фітопланктоні істотно зменшується. Проте в природних умовах цей ефект спостерігався за нижчих температур (28-31°C), ніж в умовах культур (38 °C).

До складу світлозбирального комплексу фотосинтетичного апарату ціанопрокаріот, крім хлорофілу *a* та каротиноїдів, входять фікобіліпротеїни

(с-фікоеритрин, с-фікоціанін та алофікоціанін). Вони, як і каротиноїди, з одного боку є допоміжними фотосинтетичними пігментами, а з іншого – низькомолекулярними компонентами антиоксидантної системи. Дослідження вмісту цих пігментів у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* в різних температурних умовах показало, що мінімальне їх накопичення у біомасі культури, як і інших пігментів, відзначалося за 20 та 38 °С, а максимальне – 32 °С. Зниження вмісту фікобіліпротеїдів за температури, що є значно вищою або нижчою від оптимальної, також спостерігалось у ціанопрокаріот *Arthronema africanum* [152] та *Spirulina platensis* [206].

Щодо особливостей функціонування ферментів дихального ланцюга – СДГ та ЦХО у представників Суанпрокаріота, то встановлено, що за мінімальної із досліджуваних температур (20 °С) їх активність була дещо нижчою. Це узгоджується з мінімальним вмістом у них фотосинтетичних пігментів за цих умов. Найбільш істотні перебудови в дихальному метаболізмі *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata* спостерігалися за температури 32 °С. На 14-у добу росту культур в цих умовах реєструвалося помітне стимулювання ферментативної активності СДГ та ЦОХ. Проте зі збільшенням їх віку та тривалості впливу температури 32 °С до 28-и діб спостерігалася повна інактивація обох ферментів, що, ймовірно, обумовлено змінами в їх енергетичному метаболізмі, в ході яких має місце активація анаеробної гілки енергозабезпечення та пригнічення дихання. Отже, згідно одержаних результатів найбільш сприятливою температурою для функціонування культур досліджуваних видів Суанпрокаріота є 26 °С.

Нами було показано, що вираженого ігнібуючого ефекту температури 32 °С на активність ключового ферменту азотного обміну – глутаматдегідрогенази у синьозелених водоростей, як у зелених, не спостерігалось. У *Phormidium autumnale* f. *uncinata* зміни функціональної активності цього ферменту були меншими, ніж у інших досліджуваних видів водоростей що, в свою чергу, свідчить про його високу терморезистентність.

Ключова роль в процесах адаптації представників Cyanoprokaryota до несприятливих температур належить антиоксидантній системі захисту. За максимальної температури у *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata* активність ферментів-антиоксидантів була пригнічена, проте значно посилювався синтез низькомолекулярних антиоксидантів. При цьому вміст фікобіліпротейнів в цих умовах зріс більше, ніж каротиноїдів. Це свідчить про їх значний внесок в терморезистентність ціанопрокаріот.

Одержані результати дають підстави стверджувати, що температура середовища існування істотно впливає на інтенсивність та направленість фізіолого-біохімічних процесів, що протікають у водоростевих клітинах. Характер реакції-відповіді різних видів водоростей на зміну температурного режиму вирощування залежить від їх видових особливостей, віку, а також величини температури та тривалості її впливу. Найбільш стійкою до впливу екстремально високих температур виявилася ціанопрокаріота *Phormidium autumnale* f. *uncinata*, а найменш стійкою – зелена водорість *Tetraedron caudatum*. Очевидно, ціанопрокаріоти характеризуються високим адаптаційним потенціалом завдяки наявності фікобіліпротейнів – водорозчинних пігментів білкової природи, що володіють сильними антиоксидантними властивостями.

ВИСНОВКИ

На підставі експериментальних та натурних досліджень встановлено закономірності змін фізіолого-біохімічних показників у деяких видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota, поширених у водоймах України, за впливу різних температур. З'ясовано роль ферментів енергетичного та азотного обміну, а також деяких високо- та низькомолекулярних антиоксидантів у адаптації досліджуваних еукаріот та прокаріот до підвищення температури.

1. Виявлено, що найвища інтенсивність росту зелених мікроводоростей *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* спостерігалась за мінімальної із досліджуваних температур – 20°C, натомість ціанопрокаріота *Aphanocapsa planctonica* накопичувала більшу біомасу за 26 та 32°C. Відмічено повне пригнічення росту як зелених мікроводоростей, так і ціанопрокаріот за температури 38°C.

2. Встановлено, що вміст хлорофілу *a*, як і суха маса, культур *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* максимальні за 20°C, а у *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata* – за вищих температур (26°C та 32°C). В умовах впливу екстремально високої температури (38°C) у обох видів Chlorophyta та Cyanoprokaryota зареєстровано найнижчі величини цього показника.

3. Між вмістом хлорофілу *a* у біомасі (Хл.*a* /Б) літнього фітопланктону мілководдя Канівського водосховища і температурою води встановлена обернена залежність: з її збільшенням від 21 до 31°C відношення Хл.*a*/Б зменшилося в 2 рази. За екстремально високих температур сумарний вміст каротиноїдів у фітопланктоні також знизився. У природних умовах ефект зменшення вмісту фотосинтетичних пігментів у біомасі фітопланктону зі збільшенням температури води спостерігається при нижчих її величинах, ніж в умовах культур.

4. Показано, що у зелених водоростей за температур 20, 26 та 32°C на рівні ферменту циклу Кребса – сукцинатдегідрогенази істотних змін у функціонуванні дихального ланцюга не відбувається. Натомість, у

ціанопрокаріот за температури 32°C із виходом культур на стаціонарну фазу росту відбувається повне інгібування активності цього ферменту.

5. Виявлено, що цитохромоксидаза усіх досліджуваних культур більш чутлива до змін температури, ніж сукцинатдегідрогеназа. На експоненційній фазі росту (14-а доба) за температури 32°C у *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* активність цитохромоксидази більша, ніж за 20°C відповідно у 6,2 та 4,6 рази, а у *Aphanocapsa planctonica* та *Phormidium autumnale* f. *uncinata* – у 3,1 та 2,4 рази відповідно, що пов'язано, очевидно, з інтенсифікацією у них дихання. Проте з виходом усіх культур на стаціонарну фазу росту (28-а доба) за цієї температури цитохромоксидаза практично повністю інгібується, що свідчить про порушення функціонування дихального ланцюга.

6. Показано, що за температури 26°C порівняно з 20°C у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota відбувається активування глутаматдегідрогенази. Натомість за температури 32°C як анаболічна, так і катаболічна активність ферменту була пригнічена, тобто спостерігалось порушення глутаматдегідрогеназної гілки метаболізму азоту.

7. Встановлено, що у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за екстремально високих температур зміни фізіолого-біохімічних показників виявилися найменшими порівняно з *Aphanocapsa planctonica* та зеленими мікроводоростями. Це свідчить про те, що представник нитчастих перифітонних ціанопрокаріот *Ph. autumnale* f. *uncinata* є найбільш стійким до високої температури.

8. Виявлено, що максимальною активністю супероксиддисмутази у зелених водоростей та ціанопрокаріот була за температури 20°C. Її функціональна здатність зменшувалась при вищих температурах культивування і була мінімальною за температури 32°C.

9. Активність каталази і супероксиддисмутази в усіх досліджуваних культур за температур 20°C та 26°C знаходилися у протифазі, що пояснюється тим, що високі концентрації супероксидного радикалу

пригнічують активність каталази, а пероксиду водню – супероксиддисмутази. За температури 32°C активність обох ферментів стрімко знизилася.

10. Встановлено, що зміни показників активності глутатіонпероксидази за температур 20, 26 і 32°C в усіх досліджуваних видів загалом збігалися з динамікою активності каталази, що пов'язано з участю обох ферментів в розщепленні пероксиду водню.

11. Встановлений факт зниження за температури 32°C активності ферментів-антиоксидантів у старіших культур та збільшення вмісту каротиноїдів і фікобіліпротейнів свідчить про те, що важлива роль в захисті клітин мікроводоростей від активних форм кисню за впливу високих температур належить низькомолекулярним антиоксидантам.

12. Виявлено, що за температури 32°C вміст фікобіліпротейнів в біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata* був вищим порівняно з 20°C в 2 рази. При комбінованому впливі стресових чинників: підвищенні температури культурального середовища, додатковому внесенні до нього джерела азоту та зменшенні освітлення вміст с-фікоеритрину, с-фікоціаніну та алофікоціаніну зріс ще суттєвіше (відповідно у 2,8, 3,5 та 2,5 рази). Отримані результати слід враховувати у біотехнологічній практиці при отриманні фікобіліпротейнів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алекин О.А. Основы гидрохимии / О.А. Алекин. – Л.: Гидрометеиздат, 1970. – 413 с.
2. Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура / В.Я. Александров. – Л.: Наука, 1975. – 329с.
3. Алябьев А.Ю. Энергетический баланс растительной клетки при действии высоких температур и засоления: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.00.12 «Физиология и биохимия растений» / А.Ю. Алябьев. – Казань, 1996. – 25 с.
4. Амелунксен Р. Жизнь микробов при высоких температурах: механизмы и молекулярные аспекты / Р. Амелунксен, Э. Мэдок // Жизнь микробов в экстремальных условиях. – М.: Мир, 1981. – 519 с.
5. Астафурова Т.П. Взаимосвязь фотосинтеза и дыхания при адаптации растений к условиям гипобарической гипоксии: автореф. дис. на соиск. ученой степени докт. биол. наук: спец. 03.00.12 «Физиология растений» / Т.П. Астафурова. – С.-Петербург, 1997. – 42 с.
6. Бабенко В.И. Влияние пониженной температуры на малат- и глутаматдегидрогеназу хлоропластов озимой пшеницы / В.И. Бабенко, Ф.Д. Нарийчук // Доклады АН СССР. – 1976. – Т. 228, № 5. – С. 1252–1255.
7. Бабіченко В.М. Зміни температури повітря на території України наприкінці ХХ та початку ХХІ століття / В.М. Бабіченко, Н.В. Ніколаєва, Л.М. Гущина // Український географічний журнал. – 2007. – №4. – С. 3-12.
8. Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений / В.В. Бараненко // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 6. – С. 465–474.
9. Басова М.М. Жирнокислотный состав липидов некоторых видов микроводорослей / М.М. Басова // Альгология. – 2005. – Т. 15, № 4. – С. 415–436.

10. Бацманова Л.М. Проксиданти-антиоксиданти в листках пшениці степового екотипу за дії пероксиду водню / Л.М. Бацманова, Н.Ю. Таран, М.М. Мусієнко // Укр. бот. журн. – 2011. – Т. 68, № 2. – С. 259–264.
11. Белая С.А. Экологическая характеристика прибрежных морских вод Сихотэ-Алинского биосферного заповедника / С.А. Белая, Н.К. Христофорова // Изв. ТИНРО. – 2011. – Т. 167. – С. 176–189.
12. Боднар О.І. Адаптивні властивості водоростей за дії іонів металів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.17 «Гідробіологія» / О.І. Боднар. – Київ, 2009. – 23 с.
13. Боднар О.І. Роль азотного обміну в адаптації водоростей до іонів металів / О.І. Боднар, А.І. Горда, В.В. Грубінко // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. – 2010. – № 1(42). – С. 62–76.
14. Василенко О.В. Энергетический и азотистый обмен у *Chlorella vulgaris* Beij. (Chlorophyta) под влиянием селенита натрия / О.В. Василенко, О.И. Боднар, Г.Б. Винярская // Альгология. – 2014. – № 24(3). – С. 297–301.
15. Васьковский В.Е. Липиды / В.Е. Васьковский // Сорос. образ. журн. – 1997. – № 3. – С. 32–37.
16. Водоросли. Справочник / С.П. Вассер, Н.В. Кондратьева, Н.П. Масюк [и др.]. – Киев: Наук. думка, 1989. – 608 с.
17. Войцехович А.А. Пигменты фотосинтетического аппарата зелёных водорослей – фотобионтов лишайников / А.А. Войцехович, Г.П. Кашеваров // Альгология. – 2010. – Т. 20, № 3. – С. 287–299.
18. Гамбарова Н.Г. Быстрые перестройки в работе фотосинтетического аппарата в различных сортах пшеницы при тепловом шоке / Н.Г. Гамбарова // Вестник МГОУ. Сер. Естеств. науки. – 2009. – № 2. – С. 28–34.
19. Гамбарова Н.Г. Сопоставление особенностей действия высокой температуры и экзогенной перекиси водорода на активность

- антиоксидантной системы хлоропластов пшеницы / Н.Г. Гамбарова // Вестник МГОУ. Сер. Естеств. науки. – 2011. – № 2. – С. 28–33.
20. Гарифзянов А.Р. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений / А.Р. Гарифзянов, Н.Н. Жуков, В.В. Иванищев // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – 21 с.
21. Гармаш Е.В. Альтернативный путь дыхания в растениях: регуляция и функции / Е.В. Гармаш // Известия Коми науч. центра УрО РАН. – 2010. – Вып. 3. – С. 26–31.
22. Гарник Е.Ю. Экспрессия гена глутаматдегидрогеназы *gdh2* арабидопсиса индуцируется под влиянием ингибитора синтеза тетрапирролов норфлуразона / Е.Ю. Гарник, В.И. Бельков, В.И. Тарасенко [и др.] // Журнал стресс-физиологии и биохимии. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 299–309.
23. Горюнова Ю.Д. Влияние экологических факторов на содержание в растениях некоторых антиоксидантов: автореф. дис. на соиск. ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.00.16 «Экология», 03.00.12 «Физиология и биохимия растений» / Горюнова Ю.Д. – Калининград, 2010. – 26 с.
24. Грохольська О. Каталаза як компонент антиоксидантної системи рослин за дії іонів важких металів та регулятора росту трептолему / О. Грохольська, В. Гащишин, О. Терек: мат. IV студ. наук.-практ. конф. «Захист навколишнього середовища. Збалансоване природокористування». – Львів: Вид-во Львів. політех., 2011. – С. 44–46.
25. Губаренко Ю.Ю. Стан антиоксидантної системи в меристемах кукурудзи за дії сполук кадмію та гіпертермії / Ю.Ю. Губаренко, В.С. Більчук: materialy VI miedzynarodowej naukowo-praktycznej konf. «Strategiczne pytania swiatowej nauki». – Przemysl, 2010. – Р. 65–67.
26. Гудвилович И. Н. Динамика суммарных каротиноидов и хлорофилла-*a* в клетках *Dunaliella salina* в квазинепрерывной культуре / И.Н. Гудвилович,

- Н. М. Береговая, А. Б. Боровков // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 52–55.
27. Гудвилович И.Н. Влияние условий культивирования на рост и содержание фикобилипротеинов красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* (обзор) / И. Н. Гудвилович // Экология моря. – 2010. – Спец. вып. 81. – С. 28–36.
28. Грубінко В.В. Функціонування глутаматдегідрогеназного шляху зв'язування амонію у прісноводних водоростей / В.В. Грубінко, О.І. Боднар, О.В. Василенко та ін. // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. Сер. Біологія. – 2014. – № 1 (58). – С. 31–36.
29. Демин И.Н. Участие $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы в формировании устойчивости растений картофеля к гипотермии: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: спец. 03.01.05 «Физиология и биохимия растений» / И.Н. Демин. – М., 2010. – 25 с.
30. Джумаева Г.Р. Альгофлора основных термальных и минеральных источников памира: автореф. дис. на соиск. научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.05 «Ботаника» / Г.Р. Джумаева. – Новосибирск, 2008. – 16 с.
31. Дмитрович Н.П. Влияние физиологического состояния микроводорослей на соотношение в их клетках различных пигментов / Н.П. Дмитрович, Т.В. Козлова // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. – 2015. – № 1. – С. 40–43.
32. Дубинина Е.Е. Активные формы кислорода и их роль в развитии оксидативного стресса / Е.Е. Дубинина: труды науч. конф., посвящ. 100-летию каф. биохимии С.-Петерб. гос. мед. ун-та им. акад. И.П. Павлова «Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии» / ред. И.Г. Щербак. – СПб. : Издательство СПб ГМУ, 1998. – Т. 2. – С. 386–398.

33. Золотарьова О.К. Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / О.К. Золотарьова, Є.І. Шнюкова, О.О. Сиваш [та ін.]. – К.: Альтерпрес, 2008. – 234 с.
34. Іванченко О.Є. Вплив важких металів на метаболізм азоту рослин / О.Є. Іванченко // Питання біоіндикації та екології. – 2009. – Вип. 14, № 2. – С. 69–79.
35. Карпец Ю.В. Ответ растений на гипертермию: молекулярно-клеточные аспекты / Ю.В. Карпец, Ю.Е. Колупаев // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – Вип. 1(16). – С. 19–38.
36. Кияк Н. Вплив абіотичних стресових факторів на інтенсивність ПОЛ і активність супероксиддисмутази у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw. / Н. Кияк, І. Микієвич // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біол. – 2010. – Вип. 53. – С. 181–187.
37. Колупаєв Ю.Є. Стресові реакції рослин (молекулярно-клітинний рівень) / Ю.Є. Колупаєв. – Харків: Харк. держ. аграрн. ун-т. – 2001. – 173 с.
38. Колупаєв Ю.Е. Ранние реакции растений на действие стрессоров: повреждение, сигналинг, защита / Ю.Е. Колупаев, Ю.В. Карпец // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2012. – Вип. 2(26). – С. 6–24.
39. Колупаєв Ю.Є. Активні форми кисню і антиоксидантна система при перехресній адаптації рослин до дії абіотичних стресорів / Ю.Є. Колупаєв, О.І. Обозний // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. Біологія. – 2013. – Вип. 3. – С. 18–31.
40. Кондрашова М.Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях ткани / Н.М. Кондрашова // Биохимия. – 1991. – Т. 56, № 3. – С. 388–404.
41. Конотоп Є.О. Формування адаптивної відповіді *Glycine max* (L.) Merr. на вплив іонів кадмію залежно від умов азотного живлення / Є.О. Конотоп, І. Матушикова, Л.М. Бацманова [та ін.] // Український ботанічний журнал. – 2012. – Т. 69, N 3. – С. 438–446.

42. Косаківська І.В. Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків / І.В. Косаківська, І.В. Голов'янюк // Український фітоценологічний збірник. – 2006. – Вип. 24. – Сер. С. – С. 3–17.
43. Косаковская И.В. Стрессовые белки растений / И.В. Косаковская– Киев, 2008. – 150 с.
44. Коппа Ю.В. Моделирование зависимости биомассы фитопланктона от содержания хлорофилла *a* / Ю.В. Коппа, А.В. Курейшевич, М.Н. Пахомова // Автоматика. – 1984. – № 1. – С. 57–61.
45. Кордюм Е.Л. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Е.Л. Кордюм, К.М. Сытник, В.В. Бараненко [и др.]. – К.: Наук. думка, 2003. – 277 с.
46. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
47. Кравченко А.О. Сезонные изменения содержания фотосинтетических пигментов у красной водоросли *Ahnfeltiopsis flabelliformis* Японского моря / А.О. Кравченко, Е.С. Белоциценко, И.М. Яковлева [и др.] // Известия Тихоокеан. науч.-исслед. рыбохоз. центр. – Владивосток, 2011. – Т. 166. – С. 138–148.
48. Креславский В.Д. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу / В.Д. Креславский // Биол. мембраны. – 2007. – Т. 24, № 3. – С. 195–217.
49. Креславский В.Д. Регуляция стресс-устойчивости фотосинтетического аппарата индукторами различной природы: автореф. дис. на соискание ученой степени докт. биол. наук: спец. 03.01.05 «Физиология и биохимия растений» / В.Д. Креславский. – М., 2010. – 40 с.
50. Креславский В.Д. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений / В.Д. Креславский, Д.А. Лось, С.И. Аллахвердиев, В.В. Кузнецов // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163–178.

51. Кузьменко М.И. Миксотрофизм синезеленых водорослей и его экологическое значение / М.И. Кузьменко. – Киев: Наук. думка, 1981. — 212 с.
52. Кулаева О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу / О.Н. Кулаева // Сорос. образ. журн. – 1997. – №2. – С. 5–13.
53. Куперман И.А. Дыхательный газообмен как элемент продукционного процесса растений / И.А. Куперман, Е.В. Хитрово. – Новосибирск: Наука, 1977. – 183 с.
54. Курганова Л.Н. Перекисное окисление липидов – одна из возможных компонент быстрой реакции на стресс / Л.Н. Курганова // СОЖ. – 2001. – № 6. – С. 76–78.
55. Курейшевич А.В. Пигменты фитопланктона и факторы, влияющие на их содержание в водоеме (на примере днепровских водохранилищ): автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.00.17 «Гидробиология» / А.В. Курейшевич. – Киев, 1983. – 23 с.
56. Курейшевич А.В. Некоторые факторы, влияющие на относительное содержание хлорофилла в биомассе фитопланктона / А.В. Курейшевич, М.Н. Пахомова: тез. докл. конф. по спорным растениям Средней Азии и Казахстана: Ташкент, 4-6 сент., 1989. – С. 61–62.
57. Курейшевич А.В. Многолетняя динамика содержания хлорофилла *a* и особенности развития фитопланктона в Днепродзержинском водохранилище / А.В. Курейшевич, Л.А. Сиренко, В.А. Медведь // Гидробиол. журн. – 1999. – Т. 35, № 2. – С. 49–62.
58. Курейшевич А.В. Минерализация воды как фактор, определяющий развитие фитопланктона и содержание в нем фотосинтезирующих пигментов / А.В. Курейшевич, А.А. Морозова, А.В. Шуляренко [и др.] // Гидробиол. журн. – 2002. – Т. 38, № 5 – С. 32–46.
59. Левыкина И.П. Индукционные изменения флуоресценции листьев бобов после теплового воздействия / И.П. Левыкина, В.А. Караваев // Вестник

- Московского университета. Сер. Физика, астрономия. – 2016. – № 1. – С. 106–112.
60. Лось С.И. Действие красного света на фотосинтетический аппарат при авто- и фотогетеротрофном росте *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. (Cyanophyta) / С.И. Лось, Р.Н. Фомишина, С.Н. Васильченко [и др.] // Альгология. – 2007. – Т. 17, № 4. – С. 450–457.
 61. Лось С.И. Влияние мочевины на спектральные свойства фикобилиновых пигментов водорослей / С.И. Лось // Альгология. – 2009. – Т. 19, № 1. – С. 25–33.
 62. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс / А.С. Лукаткин . – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. – 208 с.
 63. Малева М.Г. Влияние тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат и антиоксидантный статус элодеи / М.Г. Малева, Г.Ф. Некрасова, Г.Г. Борисова // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 216–224.
 64. Маргулис Б.А. Двойная роль шаперонов в ответе клетки и всего организма на стресс / Б.А. Маргулис, И.В. Гужова // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 3. – С. 219–228.
 65. Марценюк П.П. Люминесцентные спектральные характеристики клеток синезеленых водорослей (цианобактерий) / П.П. Марценюк, В.Н. Карнаухов // Гидробиол. журн. – 1979. – Т. 15, № 1 – С. 69–73.
 66. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. Сер. Физиол. растений. – М.: ВИНТИ, 1989. – 168 с.
 67. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сиренко, А.И. Сакевич, Л.Ф. Осипов [и др.]; под ред. А. В. Топачевский – К.: Наук. думка, 1975. – 247 с.
 68. Методы биохимических исследований: Учеб. пособ. / [под ред. М.И. Прохоровой]. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. — 273 с.

69. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / [за ред. В.Д. Романенка]. – Київ: Логос, 2006. – 408 с.
70. Минеева Н.М. Растительные пигменты в воде волжских водохранилищ / Н.М. Минеева. – М.: Наука, 2004. – 156 с.
71. Минеева Н.М. Содержание хлорофилла *a* в единице биомассы фитопланктона (Обзор) / Н.М. Минеева, Л.А. Щур // Альгология. – 2012. – Т. 22, № 4. – С. 441–456.
72. Минеева Н.М. Сезонная и многолетняя динамика содержания хлорофилла *a* в единице биомассы фитопланктона Шекснинского и Рыбинского водохранилищ (Россия) / Н.М. Минеева, Л.Г. Корнева, В.В. Соловьева // Альгология. – 2013. – Т. 23, № 2. – С. 150-166.
73. Мирошниченко О.С. Биогенез, физиологическая роль и свойства каталазы / О.С. Мирошниченко // Биополимеры и клетка. – 1992. – Т. 8, № 6. – С. 3–25.
74. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
75. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин / М.М. Мусієнко. – К.: Либідь, 2005. – 808с.
76. Мутыгуллина Ю.Р. Динамика содержания и роль пигментов фотосинтеза у видов рода *Dianthus* L. флоры Предкавказья / Ю.Р. Мутыгуллина // Вестник МГОУ. Сер. Естеств. науки. – 2009. – № 1. – С. 52–55.
77. Мухутдинов В.Ф. Продуктивность фитопланктона и гидрохимический режим Юмагузинского водохранилища (р. Белая, Башкортостан) в первые годы его существования: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.02.10 «Гидробиология» / В.Ф. Мухутдинов. – Борок, 2013. – 21 с.
78. Мюльберг А.А. Фолдинг белка / А.А. Мюльберг. – СПбУ, 2004. – 156 с.
79. Нижник Т.П. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів і активність антиоксидантних ферментів у листках картоплі за дії посухи та полістимуліну

- К / Т.П. Нижник, І.П. Григорюк, Л.М. Михальська // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 1. – С. 130–135.
80. Никитина В.Н. Синезеленые водоросли термальных месторождений: автореф. дис. на соиск. научн. степени докт. биол. наук: спец. 03.00.05 «Ботаника» / В.Н. Никитина. – Санкт-Петербург. – 2000. – 43 с.
81. Никитина В.Н. Синезеленые водоросли (цианобактерии) природных термальных биотопов / В.Н. Никитина. – СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2005. – 110 с.
82. Никулина Т. В. Водоросли горячих источников Курильских островов (Россия) / Т. В. Никулина // Альгология. – 2010. – Т. 20, № 3. – С. 334–356.
83. Пестова Е.Л. Влияние салициловой кислоты на состояние перекисного гомеостаза растений гороха при преадаптации к тепловому шоку: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук : спец. 03.00.12 «Физиол. и биохим. раст. » / Е.Л. Пестова. – Нижний Новгород, 2007. – 22 с.
84. Половникова М.Г. Экофизиология стресса / М.Г. Половникова. – СПб.: Изд-во Марий. ун-та, 2010. – 256 с.
85. Попов В.Н. Перекисное окисление липидов при низкотемпературной адаптации листьев и корней теплолюбивых растений табака / В. Н. Попов, О. В. Антипина, Т. И. Трунова // Физиол. раст. – 2010. – Т. 57, № 1. – С. 153-156.
86. Рахманкулова З.Ф. Влияние дефицита воды на функции митохондрий и полиморфизм ферментов дыхания у растений / З.Ф. Рахманкулова, Е.В. Шуйская, Е.С. Рогожникова // Журнал общей биологии. – 2013. – Т. 74, № 3. – С. 167–179.
87. Романова Л.А. Методы определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония / Л.А. Романова, И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 64–66.

88. Романова Е.В. Ферменты в антиокислительной системе растений: супероксиддисмутаза / Е.В. Романова // Агро XXI. – 2008. – №7–9. – С. 27–30.
89. Россихіна Г.С. Стан антиоксидантної системи *Zea mays* під впливом гербіцидів Г.С. Россихіна // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Сер. Біол., екол. – 2006. – 1(14). – С. 149–154.
90. Россихіна Г.С. Інтенсивність утворення прооксидантних компонентів в рослинах кукурудзи різної стійкості до дефіциту вологи та гербіцидів / Г.С. Россихіна, О.М. Вінниченко, Ю.В. Лихолат // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. Біол. – 2010. – Вип. 27. – С. 96 – 103.
91. Россихіна-Галича Г. Компоненти прооксидантно-антиоксидантної системи вегетативних органів рослин кукурудзи як показники їх реакції на дію гербіцидів / Г. Россихіна-Галича // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біол. – 2013. – Вип. 62. – С. 315–324.
92. Садчиков А.П. Продуцирование и трансформация органического вещества размерными группами фито- и бактериопланктона (на примере водоемов Подмосковья): автореф. дис. на соиск. научн. степени докт. биол. наук: спец. 03.00.18 «Гидробиология» / А.П. Садчиков. – М., 1997. – 53 с.
93. Сакевич А.И. Экзометаболиты пресноводных водорослей. – К.: Наук. думка, 1985. – 196 с.
94. Санина Н.М. Мембранообразующие липиды. Физико-химические основы термоадаптации морских беспозвоночных и макрофитов: автореф. дис. на соиск. научн. степени докт. биол. наук: спец. 03.00.04 «Биохимия» / Н.М. Санина. – Владивосток, 2006. – 28 с.
95. Сафиуллина Л.М. Устойчивость почвенной водоросли *Eustigmatos magnus* (В. Petersen) Hibberd (Eustigmatophyta) к действию высоких температур / Л.М. Сафиуллина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13, № 5(2). – С. 212–215.

96. Семихатова О.А. Энергетика дыхания растений в норме и при экологическом стрессе / О. А. Семихатова. – Л.: Наука, 1990. – 72 с.
97. Сигарева Л.Е. Содержание и фотосинтетическая активность хлорофилла фитопланктона Верхней Волги: автореф. дис. на соиск. научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.18 «Гидробиология» / Л.Е. Сигарева. – Борок, 1984. – 24 с.
98. Сиренко Л.А., Козицкая В.Н. Биологически активные вещества водорослей и качество воды / Л.А. Сиренко, В.Н. Козицкая. – К.: Наук. думка, 1988. – 254 с.
99. Ситар О.В. Регулювання адаптивних реакцій проростків сої сіркою за умов свинцевого забруднення / О.В. Ситар // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2010. – Т.42, №5. – С. 443–449.
100. Скороход І.О. Низькомолекулярні антиоксиданти мікроорганізмів / І.О. Скороход, І.К. Курдиш // Мікробіологічний журнал. –2014. – Т. 76, № 3. – С. 48–59.
101. Софьин А.В. Гдутамадегидрогеназы одноклеточной зеленой водоросли *Ankistrodesmus braunii*. Кинетические свойства / А.В. Софьин, В.Р. Шатилов, В.Л. Кретович // Биохимия. — 1984. — 49(2). — С. 334–343.
102. Стадничук І.Н. Фикобилипротеїни / І.Н. Стадничук – М.: ВИНІТИ, 1990. – Т. 40. – С. 1-193.
103. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
104. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
105. Судницына Д.Н. Экология водорослей Псковской области / Д.Н. Судницына. – Псков: ПГПУ, 2005. – 128 с.

106. Сущик Н.Н. Роль незаменимых жирных кислот в трофометаболических взаимодействиях в пресноводных экосистемах / Сущик Н.Н. // Журнал общей биологии. – 2008. – Т. 69, № 4. – С. 299–316.
107. Тарчевский Н.А. Сигнальные системы клеток растений / Н.А. Тарчевский. – М.: Наука. 2002. – 294 с.
108. Тихонов А.Н. Защитные механизмы фотосинтеза / А.Н. Тихонов // Сорос. образ. журн. – 1999. – № 11. – С. 16–21.
109. Трифонова И.С. Состав и продуктивность фитопланктона озер Карельского перешейка / И.С. Трифонова. — Л.: Наука, 1979. – 168 с.
110. Трофимова В.В. Суточная динамика хлорофилла *a* фитопланктонного сообщества эстуарной зоны Кольского залива (Баренцево море) / В.В. Трофимова, П. Р. Макаревич // Альгология. – 2009. – Т. 19, № 2. – С. 145–154.
111. Туз Ю. В. Багаторічна сезонна зміна температури повітря на території України / Ю. В. Туз // Географія та туризм. – 2012. – Вип. 18. – С. 268-274.
112. Ухань О.О. Характеристика кисневого режиму поверхневих вод басейну р. Сіверський Донець / О.О. Ухань // Наук. праці УкрНДГМІ. – 2010. – Вип. 259. – С. 199–216.
113. Физиология растений / [Н.Д. Алехина, Ю.В. Балнокин, В.Ф. Гавриленко и др].– М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.
114. Физиология растений / С.С. Медведев: Учебник. – С.Пб.: БХВ-Петербург, 2012. – 512 с.
115. Федорин Д.Н. Световая регуляция функционирования сукцинатдегидрогеназы в листьях растений: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.00.12 «Физиология и биохимия растений» / Д. Н. Федорин. – Воронеж, 2007. – 24 с.
116. Цымбал И.М. Изменение содержания фотосинтетических пигментов у церамиума как ответная реакция на загрязнение среды / И.М. Цымбал, Н.Ю. Заиченко // Екологічна безпека. – 2010. – Вип. 1. – С. 111-117.

117. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С.Чевари, Т. Анделян, Я. Штенгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
118. Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2006. – №7. – С. 29–36.
119. Чиркова Т.В. Клеточные мембраны и устойчивость растений к стрессовым воздействиям / Т.В. Чиркова // Сорос. образ. журн. – 1997. – № 9. – С. 12–17.
120. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений / Т.В. Чиркова. – СПб.: Изд-во С. – Петерб. ун-та, 2002. – 244 с.
121. Шатилина Ж.М. Белки теплового шока в механизмах стресс-адаптации у байкальских амфипод и палеарктического *Gammarus lacustris* Sars: II. Семейство низкомолекулярные малые БТШ / Ж.М. Шатилина // Сибирский экологический журнал. – 2010. – № 4. – С. 623–632.
122. Шахматова О.О. Активність антиоксидантної системи деяких чорноморських гідробіонтів у прибережній акваторії Севастополя: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.17 «Гідробіологія» / Шахматова О.О. – Севастополь, 2004. – 21 с.
123. Шевченко Т.Ф. Синезеленые водоросли водоемов-охладителей ГРЭС и АЭС Украинской ССР: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: спец. 03.00.05 «Ботаника» / Т.Ф. Шевченко. – Киев, 1991. – 20 с.
124. Шевченко Т.Ф. Видовой состав водорослей фитоперифитона водохранилищ Днепровского каскада / Т.Ф. Шевченко // Гидробиол. журн. – 2007. – Т. 43, № 3. – С. 3–44.
125. Щербак В.І. Особливості розвитку літнього фітопланктону в умовах аномального температурного режиму / В.І.Щербак, Г.М. Задорожна, К.П. Каленіченко // Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія. – 2011. – Т. 1. – С. 173-178.

126. Щербак В.И. Сезонная и межгодовая динамика фитопланктона, фитомикроэпифитона и биогенных элементов на речном участке Каневского водохранилища / В.И. Щербак, В.М. Якушин, А.М. Задорожная [и др.] // Гидробиол. журнал. – 2015. – Т. 51, № 5. – С. 52–67.
127. Юрина Н.П. Устойчивость к окислительному стрессу у зеленых водорослей: корреляция с содержанием HSP 70В шаперона хлоропластов / Н.П. Юрина // Растение и стресс: Тез. докл. Всерос. симп. – М., 2010. – 404 с.
128. Ahmad P. Environmental adaptations and stress tolerance in plants in the era of climate change / P. Ahmad, M.N.V. Prasad. – New York: Springer Science+Business Media, 2012. – 518 p.
129. Allakhverdiev S.I. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis / S.I. Allakhverdiev, V.D. Kreslavski, V.V. Klimov [et al.] // Photosynth. Res. – 2008. – Vol. 98, N 1-3. – P. 541-550.
130. Allen R.D. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants / R.D. Allen // Plant Physiol. – 1995. – Vol. 107. – P. 1049–1054.
131. Almeselmani M. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress / M. Almeselmani, P.S. Deshmukh, R.K. Sairam [et al.] // Plant Sci. – 2006. – Vol 171. – P. 382–388.
132. Alscher R.G. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants / R.G. Alscher // Physiol. Plant. – 1989. – Vol. 77, N 3. – P. 457–464.
133. Alscher R.G. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants / R.G. Alscher, N. Erturk, L.S. Heath // J. Exp. Bot. – 2002. – Vol 53, N 372. – P. 1331–1341.
134. Atkin O.K. Effect of temperature on rates of alternative and cytochrome pathway respiration and their relationship with the redox poise of the quinone pool / O.K. Atkin, Q. Zhang, J.T. Wiskich // Plant Physiol. – 2002. – Vol. 128. – P. 212–222.

135. Ayyaraju M. Structural organization and functions of phycobiliproteins in Cyanobacteria / M. Ayyaraju, S.D.S. Murthy, R. Prasanna // Int. J. of Plant, Animal and Environ. Sci. – 2013. – Vol. 2, N 2. – P.9–17.
136. Barsanti L. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology / L. Barsanti, P. Gualtieri. – Boca Raton Fla.: CRC Press, 2014. – 347 p.
137. Basha E. Chaperone activity of cytosolic small heat shock proteins from wheat / E. Basha, G.J. Lee, B. Demeler [et al.] // Eur. J. Biochem. – 2004. – Vol. 271, N 8. – P. 1426–1436.
138. Beardall J. The potential effects of global climate change on microalgal photosynthesis, growth and ecology / J. Beardall, J.A. Raven // Phycologia. – 2004. – Vol. 43, N 1. – P. 26–40.
139. Berges J.A. Effects of temperature on growth rate, cell composition and nitrogen metabolism in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae) / J.A. Berges, D.E. Varela, P.J. Harrison // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 2002. – Vol. 225. – P. 139–146.
140. Bierkens J. Effect of different environmental variables on the synthesis of Hsp70 in *Raphidocelis subcapitata* / J. Bierkens, W. van de Perre, J. Maes // Comp. Biochem. and Physiol. – Part: A Mol. & Integr. Physiol. – 1998. – Vol. 120, N 1. – P. 29–34.
141. Borbely G. Effect of heat shock on protein synthesis in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 6301 / G. Borbely, G. Suranyi, A. Korcz [et al.] // J. Bacteriol. – 1985. – Vol. 161, N 3. – P. 1125–1130.
142. Borovik O. A. The relationships among an activity of the alternative pathway respiratory flux, a content of carbohydrates and a frost-resistance of winter wheat / O. A. Borovik, O. I. Grabelnych, N. A. Koroleva [et al.] // J. of Stress Physiol. & Biochem. – 2013. – Vol. 9, N 4. – P. 241–250.
143. Breusegem F.V. The role of active oxygen species in plant signal transduction / F.V. Breusegem, E. Vranova, J.F. Dat [et al.] // Plant Sci. – 2001. – Vol. 161. – P. 405–414.

144. Brock T.D. Thermophilic microorganisms and life at high temperatures / T.D. Brock. – New York: Springer-Verlag, 1978. – 465 c.
145. Buchanan B.B. Biochemistry and Molecular Biology of Plants / B.B. Buchanan, W. Gruissem R.L. Jones. – Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiology, 2000. – 1367 p.
146. Buetow D.E. Differential effects of temperature on the growth of *Euglena gracilis* / D.E. Buetow // Experimental Cell Research. – 1962. – Vol. 27. – P. 137–142.
147. Butterwick C. Diversity in the influence of temperature on the growth rates of freshwater algae, and its ecological relevance / C. Butterwick, S.I. Heaney, J.F. Talling // Freshw. Biol. – 2005. – Vol. 50, N 2. – P. 291–300.
148. Butow B. Response of catalase activity to environmental stress in the freshwater dinoflagellate *Peridinium gatunense* / B. Butow, D. Wynne , E. Tel-Or // J. Phycol. – 1994. – Vol. 30, N 1. – P. 17–22.
149. Butow B. The synergistic effect of carbon concentration and high temperature on lipid peroxidation in *Peridinium gatunense* / B. Butow, D. Wynne, A. Sukenik // J. Plankton Res. – Vol. 20. – 1998. – P. 355–369.
150. Caspers G.J. Genealogy of the alpha-crystallin-small heat-shock protein superfamily / G.J. Caspers, J.A. Leunissen, W.W. de Jong // Int. J. Biol. Macromol. – 1998. – Vol. 22, N 3–4. – P. 151–162.
151. Castenholz R.W. Thermophilic blue-green algae and the thermal environment / R.W. Castenholz // Bacteriol Rev. – 1969. – Vol. 33, N 4. – P. 476–504.
152. Chaneva G. Effect of light and temperature on the cyanobacterium *Arthronema africanum* – a prospective phycobiliprotein-producing strain / G. Chaneva, S. Furnadzhieva, K. Minkova [et al.] // J. Appl. Phycol. – 2007. – Vol. 19, N 5. – P. 537–544.
153. Coleman J.R. Effect of oxygen and temperature on the efficiency of photosynthetic carbon assimilation in two microscopic algae / J.R. Coleman, B. Colman // Plant Physiol. – 1980. – Vol. 65. – P. 980–983.

154. Contreras-Porcia L. Tolerance to oxidative stress induced by desiccation in *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) / L. Contreras-Porcia, D. Thomas, V. Flores, J. A. Correa // J. Exp. Bot. – 2011. – Vol. 62, N6. – P. 1815–1829.
155. Dabrowska G. Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family / G. Dabrowska, A. Kata, A. Goc [et al.] // Acta. Biol. Cracov. Ser. Bot. – 2007. – Vol. 49, N 1. – P. 7–17.
156. Dadheech N. Desiccation tolerance in cyanobacteria / N. Dadheech // Afr. J. Microbiol. Res. – 2010. – Vol. 4, N 15. – P. 1584–1593.
157. Davison I.R. Adaptation of photosynthesis in *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) to changes in growth temperature / I.R. Davison // J. Phycol. – 1987(a). – Vol. 23. – P. 273–283.
158. Davison I.R. The effect of growth temperature on enzyme activities in the brown alga *Laminaria saccharina* / I.R. Davison, J. Davison // Br. Phycol. J. – 1987(6). – Vol. 22. – P. 77–87.
159. Davison I.R. Temperature acclimation of respiration and photosynthesis in the brown alga *Laminaria saccharina* / I.R. Davison, R.M. Greene, E.J. Podolak // Mar. Biol. – 1991. – Vol. 110. – P. 449 – 454.
160. De-Bashan L.E. Role of glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase in *Chlorella vulgaris* during assimilation of ammonium when jointly immobilized with the microalgae-growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense* / L.E. De-Bashan, P. Magallon, H. Antoun, Y. Bashan // J Phycol. – 2008. – Vol. 44, N. 5. – P. 1188-1196.
161. Dhargalkar V.K. Effect of different temperature regimes on the chlorophyll *a* concentration in four species of Antarctic macroalgae / V.K. Dhargalkar // Seaweed Res. Utiln. – 2004. – Vol. 26. – P. 237 – 243.
162. Dietz K.-J. Redox signal integration: from stimulus to networks and genes / K.-J. Dietz // Physiol. Plant. – 2008. – Vol. 133, N 3. – P. 459–468.
163. Efeoglu B. Heat shock proteins and heat shock response in plants / B. Efeoglu // G.U. J. Sci. – 2009. – Vol. 22, N 2. – P. 67–75.

164. Enami I. Isolation and characterization of a photosystem II complex from the red alga *Cyanidium caldarium*: association of cytochrome *c*-550 and a 12 kDa protein with the complex / I. Enami, H. Murayama, H. Ohta [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 1995 – Vol. 1232. – P. 208–216.
165. Eppley R.W. Temperature and phytoplankton growth in the sea / R.W. Eppley // Fish. Bull. – 1972. – Vol. 70. – P. 1063–1085.
166. Eriksen N.T. Production of phycocyanin – a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine / N.T. Eriksen // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – Vol. 80, N 1. – P. 1–14.
167. Eriksson M.J. The heat shock protein ClpB mediates the development of thermotolerance in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942 / M.J. Eriksson, A.K. Clarke // J. Bacteriol. – 1996. – Vol. 178, N 16. – P. 4839–4846.
168. Fogg G.E. The blue-green algae / G.E. Fogg, W.D.P. Stewart, P. Fay, A.E. Walsby. – London: Academic Press, 1973. – 459 p.
169. Foyer C.H. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses / C.H. Foyer, G. Noctor // Plant Cell. – 2005. – Vol. 17. – P. 1866–1875.
170. Foyer C.H. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications / C.H. Foyer, G. Noctor // Antioxid. Redox Signal. – 2009. – Vol. 11. – P. 861–906.
171. Garbayo I. Effect of abiotic stress on the production of lutein and β -carotene by *Chlamydomonas acidophila* / I. Garbayo, M. Cuaresma, C. Vélchez [et al.] // Process. Biochem. – 2008. – Vol. 43, N 10. – P. 1158–1161.
172. Gerloff-Elias A. Temperature- and pH-dependent accumulation of heat-shock proteins in the acidophilic green alga *Chlamydomonas acidophila* / A. Gerloff-Elias, D. Barua, A. Mölich [et al.] // FEMS Microbiol Ecol. – 2006. – Vol. 56, N 3. – P. 345–354.

173. Gill S.S. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants / S.S. Gill, N. Tuteja // *Plant Physiol Biochem.* – 2010. – Vol. 48, N. 12. – P. 909–930.
174. Grabelnych O.I. The energetic functions of plant mitochondria under stress / O.I. Grabelnych // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* – 2005. – Vol. 1, N. 1. – P. 37–54.
175. Guschina I.A. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae / I.A. Guschina, J.L. Harwood // *Prog. Lipid Res.* – 2006. – Vol. 45, N 2. – P. 160–186.
176. Guschina I.A. Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry / I.A. Guschina, J.L. Harwood // *Lipids in Aquatic Ecosystems* / Eds. Arts M.T., Brett M.T., Kainz M.J. – Springer Science: Business Media LLC., 2009. – P. 1–24.
177. Guy C. Metabolomics of temperature stress / C. Guy, F. Kaplan, J. Kopka [et al.] // *Physiol. plant.* – 2008. – 132. – P. 220–235.
178. Haba P. De la. High temperature promotes early senescence in primary leaves of sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants / P. De la Haba, L. De la Mata, E. Molina, E. Agüera // *Canadian Journal of Plant Science.* – 2014. – Vol. 94, N 4. – P. 659–669.
179. Haghjou M.M. Photosynthesis and respiration under low temperature stress in two *Dunaliella* strains / M.M. Haghjou, M. Shariati // *World Appl. Sci J.* – 2007 – Vol. 2, N 4. – P. 276–282.
180. Halfen L.N. The influence of culture temperature on the carotenoid composition of the blue-green alga, *Anacystis nidulans* / L.N. Halfen, G.W. Francis // *Arch. Mikrobiol.* – 1972. – Vol. 81, N 1. – P. 25–35.
181. Han P. Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: a dynamic model / P. Han, M. Virtanen, J. Koponen [et al.] // *J. Plankt. Res.* – 2000. – Vol. 22, N 5. – P. 865–885.

182. Harwood J. Membrane lipids in algae / J. Harwood // Lipids in Photosynthesis: Structure, Function, and Genetics / Eds. P.A. Siegenthaler, N. Murata eds. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. – P. 53– 64.
183. Havaux M. Thylakoid membrane stability to heat stress studied by flash spectroscopic measurements of the electrochromic shift in intact potato leaves: influence of the xanthophyll content / M. Havaux, F. Tardy, J. Ravenel [et al.] // Plant Cell Environ. – 1996 – Vol. 19. – P. 1359–1368.
184. Heckathorn S.A. The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress / S.A. Heckathorn, C.A. Downs, T.D. Sharkey, J.S. Coleman // Plant Physiol. – 1998. – Vol. 116. – P. 439–444.
185. Hennemann M.C. Seasonal phytoplankton response to increased temperature and phosphorus inputs in a freshwater coastal lagoon, Southern Brazil: a microcosm bioassay / M.C. Hennemann, M.M. Petrucio // Acta Limnologica Brasiliensia. – 2010. – Vol. 22, N 3. – P. 295–305.
186. Hirooka S. Expression of the *Cyanidioschyzon merolae* stromal ascorbate peroxidase in *Arabidopsis thaliana* enhances thermotolerance / S. Hirooka, O. Misumi, M. Yoshida [et al.] // Plant Cell Rep. – 2009. – Vol. 28, N 12. – P. 1881–1893.
187. Holton R.W. Effect of growth temperature on the fatty acid composition of blue-green alga / R.W. Holton, H.H. Blecker, M. Onore // Phytochemistry. – 1964. – Vol. 3. – P. 595–602.
188. Horvath I. Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *Synechocystis* PCC 6803: identification of hsp17 as a "fluidity gene" / I. Horvath, A. Glatz, V. Varvasovszki [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95, N 7. – P. 3513–3518.
189. Hung S.H. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants / S.H. Hung, C.W. Yu, C.H. Lin // Bo. Bull. Acad. Sin. – 2005. – Vol. 46. – P. 1–10.
190. Jardim-Messeder D. Succinate dehydrogenase (mitochondrial complex II) is a source of reactive oxygen species in plants and regulates development and

- stress responses / D. Jardim-Messeder, A. Caverzan, R. Rauber // *New Phytol.* – 2015. – Vol. 208, N 3. – P. 776–789.
191. Jeffrey S.W. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton / S.W. Jeffrey, F.H. Humphrey // *Biochem. Physiol. Pflanz.* – 1975. – Vol. 167. – P. 171–194.
 192. Jones R.I. The importance of temperature conditioning to the respiration of natural phytoplankton communities / R.I. Jones // *British Phycological Journal.* – 1977. – Vol. 12, N 3. – P. 277–285.
 193. Juneja A. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A Review / A. Juneja, R.M. Ceballos, G.S. Murthy // *Energies.* – 2013. – Vol. 6, N 9. – P. 4607–4638.
 194. Kakinuma M. Thermal stress responses of a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) / M. Kakinuma, N. Shibahara, H. Ikeda [et al.] // *Fish. Sci.* – 2001. – Vol. 67, N 2. – P. 287–294.
 195. Kakinuma M. Physiological and biochemical responses to thermal and salinity stresses in a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta) / M. Kakinuma, D. A. Coury, Y. Kuno [et al.] // *Marine Biology.* – 2006. – Vol. 149. – P. 97.
 196. Kanematsu S. Ferric and manganic superoxide dismutases in *Euglena gracilis* / S. Kanematsu, K. Asada // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1979. – Vol. 195, N 2. – P. 535–545.
 197. Kaurov Yu.N. Thermal Stability of Electron Transport in PS II Membranes and Particles from the Thermophilic Cyanobacteria / Yu.N. Kaurov, G. K. Belyanskaya, I.I. Ivanov, A.B. Rubin // *Gen. Physiol. Biophys.* – 1990. – Vol. 9. – P. 189–202.
 198. Kenekar A.A. Effect of varying physicochemical parameters on the productivity and phycobiliprotein content of indigenous isolate *Geitlerinema sulphureum* / A.A. Kenekar, M.A. Deodhar // *Biotechnol.* – 2013 – Vol. 12. – P. 146–154.

199. Kesheri M. Antioxidants as natural arsenal against multiple stresses in cyanobacteria / M. Kesheri, Richa, R.P. Sinha // Intern. J. Pharma Biosci. – 2011. – Vol. 2, N 2. – P. 168–187.
200. Klimenko S.B. Nitrate reductase activity during heat shock in winter wheat / S.B. Klimenko, A.A. Peshkova, N.V. Dorofeev // J. Stress Physiol. Biochem. – 2006. – Vol. 2, N 1. – P. 50–55.
201. Knight J.A. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanilin reaction for estimating total serum lipids / J.A. Knight, Sh. Anderson, J.M. Rawle // Clinical chemistry. – 1972. – Vol. 18, N 3. – P. 199–202.
202. Kobayashi T. Properties of glutamate dehydrogenase and its involvement in alanine production in a hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus profundus* / T. Kobayashi, S.Higuchi, K. Kimura [et al.] // J. Biochem. – 1995 – Vol. 118. – P. 587–592.
203. Krieger-Liszkay A. Tocopherol is the scavenger of singlet oxygen produced by the triplet states of chlorophyll in the PSII reaction centre / A. Krieger-Liszkay, A. Trebst // J. Exp. Bot. – 2006. – Vol. 57, N 8. – P. 1677–1684.
204. Kuebler J.E. Photosynthetic adaptation to temperature in the red algae *Lomentaria baileyana* and *Lomentaria orcadensis* / J.E. Kuebler, I.R. Davison, C. Yarish // British Phycological Journal. – 1991. - Vol. 26, N 1. – P. 616–624.
205. Kumar R.G. Salinity induced behavioural changes in malate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase activities in rice seedlings of differing salt tolerance / R.G. Kumar, K. Shah, R.S. Dubey // Plant Sci. – 2000. – N 156(1). – P. 23-34.
206. Kumar M. Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature / M. Kumar, J. Kulshreshtha, G.P. Singh // Braz. J. Microbiol. – 2011. – Vol. 42, N 3. – P. 1128–1135.
207. Kwinta J. Effects of salinity stress on the activity of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in *Triticale seedlings* / J. Kwinta, K. Cal // Polish Journal of Environ. Studies. – 2005. – Vol. 14, N 1. – P. 125-130.

208. Kozlov, A. Influence of the fulfilled beer yeast on the level of benthos in maturing ponds at the beginning of piscicultural season / A. Kozlov // Pond Aquaculture in Central and Eastern Europe in the 21st Century: Handbook of abstracts. – Vodnany, Czech Repub, May 2–4. – 2001. – P. 16.
209. Latifi A. Oxidative stress in cyanobacteria / A. Latifi, M. Ruiz, C.C. Zhang // FEMS Microbiol. Rev. – 2009. – 33(2). – P. 258–278.
210. Lee T.M. Differences in physiological responses between winter and summer *Gracilaria tenuistipitata* (Gigartinales, Rhodophyta) to varying temperature / T.M. Lee, Y.C. Chang, Y.H. Lin // Bot. Bull. Acad. Sci. – 1999. – Vol. 49. – P. 93–100.
211. Lehel C. Heat shock protein synthesis of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803: purification of the GroEL-related chaperonin / C. Lehel, H. Wada, E. Kovacs [et al.] // Plant Mol. Biol. – 1992. – Vol. 18, N 2. – P. 327–336.
212. Lewis S. Hsp70 expression in *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) exposed to environmental stressors / S. Lewis, M.E. Donkin, M.H. Depledge // Aquat Toxicol. – 2001. – Vol. 51, N 3. – P. 277–291.
213. Likens J.E. Primary production of Inland aquatic ecosystems / J.E. Likens // Primary productivity of the biosphere. – B. etc.: Springer, 1975. – P. 185–202.
214. Lilley R.M. The determination of activity of the enzyme Rubisco in cell extracts of the dinoflagellate alga *Symbiodinium* sp. by manganese chemiluminescence and its response to short-term thermal stress of the alga / R.McC. Lilley, P.J. Ralph, A.W.D. Larkum // Plant Cell Env. – 2010. – Vol. 33. – P. 995–1004.
215. Liu Z.Y. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris* / Z.Y. Liu, G.C. Wang, B.C. Zhou // Bioresour. Technol. – 2008. – Vol. 99, N 11. – P. 4717–4722.
216. Lu N. Gene cloning, expression and activity analysis of manganese superoxide dismutase from two strains of *Gracilaria lemaneiformis* (Gracilariaceae, Rhodophyta) under heat stress / N. Lu, X. Zang, X. Zhang [et al.] // Molecules. – 2012. – Vol. 17, N 4. – P. 4522–4532.

217. McDonald A.E. Alternative oxidase in animals: unique characteristics and taxonomic distribution / A.E. McDonald, G.C. Vanlerberghe, J.F. Staples // Journal of Experimental Biology. – 2009. – Vol. 212. – P. 2627–2634.
218. McNulty A.K. The relationship between respiration and temperature in leaves of the arctic plant *Saxifraga cernua* / A.K. McNulty, W.R. Cummins // Plant Cell and Environment. – 1987 – Vol. 10. – P. 319–325.
219. Maddux W.S. Some interactions of temperature, light intensity, and nutrient concentration during the continuous culture of *Nitzschia closterium* and *Tetraselmis* sp / W.S. Maddux, R.F. Jones // Limnology and Oceanography. – 1964. – Vol. 9, N 1. – P. 79–86.
220. Mamedov M. Effects of glycinebetaine and unsaturation of membrane lipids on heat stability of photosynthetic electron-transport and phosphorylation reactions in *Synechocystis* PCC6803 / M. Mamedov, H. Hayashi, N. Murata // Biochim. Biophys. Acta. – 1993. – Vol. 1142. – P. 1–5.
221. Miflin B.J. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops / B.J. Miflin, D.Z. Habash // J. Exp. Bot. – 2002. – Vol. 53. – P. 979–987.
222. Miller-Morey J.S. Differential responses of stress proteins, antioxidant enzymes, and photosynthetic efficiency to physiological stresses in the Florida red tide dinoflagellate, *Karenia brevis* / J.S. Miller-Morey, F.M. van Dolah // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. – 2004. – Vol. 138, N 4. – P. 493–505.
223. Moller I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species / I.M. Moller // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 2001. – Vol. 52. – P. 561–591.
224. Moon B.Y. Unsaturation of the membrane lipids of chloroplasts stabilizes the photosynthetic machinery against low-temperature photoinhibition in transgenic tobacco plants / B.Y. Moon, S-I. Higashi, Z. Gombos, N. Murata // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 1995. – Vol. 92. – P. 6219–6223.

225. Mtolera M.S.P. Some properties of glutamate dehydrogenase from the marine red alga *Gracilaria sordida* (Harv.) W. Nelson / M.S.P. Mtolera // Western Indian Ocean J. Mar. Sci. – 2003. – Vol. 2, N. 2. – P. 179–186.
226. Mullineaux C.W. Electron transport and light-harvesting switches in cyanobacteria / C. W. Mullineaux // Front Plant Sci. – 2014. – Vol. 5. – P. 1-6.
227. Murakami Y. Enhanced high temperature tolerance in transgenic rice seedlings with elevated levels of alternative oxidase, OsAOX1a / Y. Murakami, K. Toriyama // Plant Biotechnol. – 2008. – Vol. 25. – P. 361–364.
228. Nedeva D. Changes in electrophoretic profiles of proteins and some antioxidant enzymes in Antarctic alga *Choricystis minor* and *Chlorella* sp. as affected by temperature and oxidative stress / D. Nedeva, I. Pouneva // Biotechnol. & Biotechnol. Eq. – 2009. – Vol. 23, N 2. – P. 233–236.
229. Nishiyama Y. Photosynthetic oxygen evolution is stabilized by cytochrome c_{550} against heat inactivation in *Synechococcus* sp. PCC 7002 / Y. Nishiyama, H. Hayashi, T. Watanabe, N. Murata // Plant Physiol. – 1994. – Vol. 105. – P. 1313–1319.
230. Nishiyama Y. Thermal protection of the oxygen-evolving machinery by PsbU, an extrinsic protein of photosystem II, in *Synechococcus* species PCC 7002 / Y. Nishiyama, D.A. Los, H. Hayashi, N. Murata // Plant Physiol. – 1997. – Vol. 115. – P. 1473–1480.
231. Nishiyama Y. PsbU, a protein associated with photosystem II, is required for the acquisition of cellular thermotolerance in *Synechococcus* species PCC 7002 / Y. Nishiyama, D.A. Los, N. Murata // Plant Physiol. – 1999. – Vol. 120, N 1. – P. 301–308.
232. Oh H.J. Hsp 110 protects heat-denatured and confers cellular thermoresistance / H.J. Oh, X. Chen, J.R. Suber // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272. – P. 636–640.
233. Okamoto O.K. Circadian protection against reactive oxygen species involves changes in daily levels of the manganese- and iron-containing superoxide

- dismutase isoforms in *Lingulodinium polyedrum* / O.K. Okamoto, P. Colepicolo // Biol. Rhythm Res. – 2001. – Vol. 32, N 4. – P. 439–448.
234. Olson G.J. Effects of temperature and nutritional changes on the fatty acids of *Agmenellum quadruplicatum* / G.J. Olson, L.O. Ingram // J. Bacteriol. – 1975. – Vol. 124, N 1. – P. 373–379.
235. Ouzounido G. Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu-tolerant *Koeleria splendens* / G. Ouzounido *Biologia Plantarum*. – 1995. – 37. – 71–78.
236. Palmer J.M. The organization and regulation of electron transport in plant mitochondria / J.M. Palmer // Ann. Rev. Plant Physiol. – 1976. – Vol. 27. – P. 133–157.
237. Pandey V.D. Biotechnological applications of cyanobacterial phycobiliproteins / V.D. Pandey, A. Pandey, V. Sharma // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. – 2013. – Vol. 2, N 9. – P. 89–97.
238. Parsons T.R. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments and carotinoids / T.R. Parsons, J.D.H. Strickland // J. Marine. Res. – 1963. – Vol. 21, N 3. – P. 155–163.
239. Popov V.N. Succinate dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana* is regulated by light via phytochrome A / V.N. Popov, A.T. Eprintsev, D.N. Fedorin, A.U. Igamberdiev // FEBS Lett. – 2010. – Vol. 584, N 1. – P. 199–202.
240. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosenbroug, A. L. Farr, R. I. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.
241. Pumas C. Thermostablility of phycobiliproteins and antioxidant activity from four thermotolerant cyanobacteria / C. Pumas, P. Vacharapiyasophon, Y. Peerapornpisal [et al.] // Phycol. Res. – 2011. – Vol. 59, N 3. – P. 166–174.
242. Purvis A.C. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues / A.C. Purvis, R.L. Shewfelt // Physiol. Plant. – 1993. – Vol. 88. – P. 712–718.

243. Purvis A.C. Role of the alternative oxidase in limiting superoxide production by plant mitochondria / A.C. Purvis // *Physiol. Plant.* – 1997. – Vol. 100. – P. 165–170.
244. Rachmilevitch S. Cytochrome and alternative pathway activity in roots of thermal and non-thermal *Agrostis* species in response to high soil temperature / S. Rachmilevitch, Y.Xu, M.A. Gonzalez-Meler [et al.] // *Physiol. Plant.* – 2007. – Vol. 129. – P. 163–174.
245. Rafiqul Md. Influence of Temperature on Growth and Biochemical Composition of *Spirulina platensis* and *S. fusiformis* / Md. Rafiqul, A. Hassan, G. Sulebele [et al.] // *Iranian Int. J. Sci.* – 2003. – Vol. 4, N 2. – P. 97-106.
246. Raison J.K. Correlation between the thermal stability of chloroplast (thylakoid) membranes and the composition and fluidity of their polar lipids upon acclimation of the higher plant *Nerium oleander* to growth temperature / J.K. Raison, J.K.M. Roberts, J.A. Berry // *Biochim Biophys Acta.* – 1982. . – Vol. 688. – P. 218–228.
247. Ranjan S. A study of the catalase reaction, with special reference to respiration in plants / S. Ranjan, A.K. Mallik // *New Phytol.* – 1931. – Vol. 30. – P. 355–381.
248. Ras M. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production / M. Ras, J.P. Steyer, O. Bernard // *Rev. Environ. Sci. Bio-Technol.* – 2013. – Vol. 12, N 2. – P. 153–164.
249. Rasion J.K. Effect of low temperature on respiration // *Biochemistry of plants: Metabolism and Respiration* / Ed. D.D. Davies – New York: Academic Press, 1980. – P. 613-626.
250. Raven J.A. Carbohydrate metabolism and respiration in algae / J.A. Raven, J. Beardall // *Photosynthesis in Algae* / [Eds. A.W.D. Larkum, S.E. Douglas, J.A. Raven]. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003 – P. 205–224.
251. Reay D.S. Temperature dependence of inorganic nitrogen uptake: reduced affinity for nitrate at suboptimal temperatures in both algae and bacteria / D.S.

- Reay, D.B. Nedwell, J. Priddle, J.C. Ellis-Evans // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – Vol. 65, N 6. – P. 2577–2584.
252. Renaud S.M. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures / S.M. Renaud, L.V. Thinh, G. Lambrinidis [et al.] // Aquaculture. – 2002. Vol. 211, N 1–4. – P. 195–214.
253. Reynolds C.S. The ecology of phytoplankton / C.S. Reynolds. – Cambridge: Cambridge University Press, 2006. – 535 p.
254. Rijstenbil J.W. Assessment of oxidative stress in the planktonic diatom *Thalassiosira pseudonana* in response to UVA and UVB radiation / J.W. Rijstenbil // J. Plankton Res. – 2002. – Vol. 24, № 12. – P. – 1277–1288.
255. Robinson S.A. Regulation of glutamate dehydrogenase activity in relation to carbon limitation and protein catabolism in carrot cell suspension cultures / S.A. Robinson, G.R. Stewart, R. Phillips // Plant Physiol. – 1992. – Vol. 98, N 3. – P. 1190–1195.
256. Rogov A.G. Alternative oxidase: distribution, induction, properties, structure, regulation and functions / A.G. Rogov, E.I. Sukhanova, L.A. Uralskaya [et al.] // Biochemistry (Moscow). – 2014. – Vol. 79, N 13. – P. 1615–1634.
257. Ross C. Intraspecific variation in stress-induced hydrogen peroxide scavenging by the ulvoid macroalga *Ulva lactuca* / C. Ross, K.L. van Alstyne // J. of Phycol. – 2007. – Vol. 43, N 3. – P. 466–474.
258. Rowan K.S. Photosynthetic Pigments of Algae / K.S. Rowan. – Cambridge: Cambridge University Press, 1989. – 334 p.
259. Rukminasari N. Effect of temperature and nutrient limitation on the growth and lipid content of three selected microalgae (*Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis* sp. and *Scenedesmus* sp.) for biodiesel production / N. Rukminasari // International Journal of Marine Science. – 2013. – Vol. 13, N 17. – P. 135–144.

260. Salvucci M.E. Relationship between the heat tolerance of photosynthesis and the thermal stability of rubisco activase in plants from contrasting thermal environments / M.E. Salvucci, S.J. Crafts-Brandner // *Plant Physiol.* – 2004. – Vol. 134, N 4. – P. 1460-1470.
261. Sandnes J.M. Combined influence of light and temperature on growth rates of *Nannochloropsis oceanica*: linking cellular responses to large-scale biomass production / J.M. Sandnes, T. Kallqvist, D. Wenner et al. // *J. Appl Phycol.* – 2005. – Vol. 17, N 6. – P. 515–525.
262. Sano S. Characterization of ascorbate peroxidases from unicellular red alga *Galdieria partita* / S. Sano, M. Ueda, S. Kitajima [et al.] // *Plant and Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 42, N 4. – P. 433–440.
263. Santero E. Glutamate Dehydrogenases: Enzymology, Physiological Role and Biotechnological Relevance / E. Santero, I. Canosa, F. Govantes, A.B. Hervás // *Dehydrogenases* / [Ed. R. A. Canuto]. – InTech, 2012. – P. 289-318.
264. Scandalios J.G. The rise of ROS / J.G. Scandalios // *Trends Biochem. Sci.* – 2002. – Vol. 27. – P. 483–486.
265. SCOR–UNESCO. Determination of photosynthetic pigments in sea water // *Monographs on oceanographic methodology*. 1. – Paris: UNESCO, 1966. – P. 9–18.
266. Schabhüttl S. Temperature and species richness effects in phytoplankton communities / S. Schabhüttl, P. Hingsamer, G. Weigelhofer [et al.] // *Oecologia*. – 2013. – Vol. 171, N 2. – P. 527–536.
267. Searle S.Y. Respiratory alternative oxidase responds to both low- and high-temperature stress in *Quercus rubra* leaves along an urban–rural gradient in New York / S. Y. Searle, D. S. Bitterman, S. Thomas [et al.] // *Functional Ecology*. – 2011. – Vol. 25, N 5. – P. 1007-1017.
268. Seckbach J. *Algae and cyanobacteria in extreme environments* / J. Seckbach. – Dordrecht: Springer, 2007. – 811c.
269. Sharkey T.D. Why plants emit isoprene / T.D. Sharkey, E.L. Singsaas // *Nature*. – 1995. – Vol. 374. – P. 769.

270. Sharma R. Impact of osmotic stress and temperature on pigments and proteins of *Anabaena strains* / R. Sharma, O.P. Chahar, M. Bhatnagar, A. Bhatnagar // J. Environ Biol. – 2013. – Vol. 5. – P. 941-943.
271. Shen J-R. Cellular localization of cytochrome c_{550} . / J-R. Shen, Y. Inoue // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268. – P. 20408–20413.
272. Shen J-R. Functional characterization of *Synechocystis* sp. PCC 6803 $\Delta psbU$ and $\Delta psbV$ mutants reveals important roles of cytochrome c -550 in cyanobacterial oxygen evolution / J-R. Shen, M. Qian, Y. Inoue, R.L. Burnap // Biochemistry. – 1998. – Vol. 37. – P. 1551–1558.
273. Singh S.P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: a review / S.P. Singh, P. Singh // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2015. – Vol. 50. – P. 431–444.
274. Sirikhachornkit A. Antioxidants and photo-oxidative stress responses in plants and algae / Sirikhachornkit A., Niyogi K.K. // The chloroplast: basics and applications. – Dordrecht: Springer, 2010. – P. 379–396.
275. Skopelitis D.S. Abiotic stress generates ROS that signal expression of anionic glutamate dehydrogenases to form glutamate for proline synthesis in tobacco and grapevine / Skopelitis D.S., Paranychianakis N.V., Paschalidis K.A. [et al.] // Plant Cell. – 2006. – Vol. 18, N10. – P. 2767–2781.
276. Son B.W. Glycolipids from *Gracilaria verrucosa* / B.W. Son // Phytochemistry. – 1990. – Vol. 29. – P. 307–309.
277. Soto I.C. Biogenesis and assembly of eukaryotic cytochrome c oxidase catalytic core / I.C. Soto, F. Fontanesi, J. Liu, A. Barrientos // Biochim. Biophys. Acta. – 2012. – Vol. 1817. – P. 883–897.
278. Stewart A.C. Studies on the polypeptide composition of the cyanobacterial oxygen-evolving complex / A.C. Stewart, U. Ljungberg, H-E. Akerlund, B. Andersson // Biochim. Biophys. Acta. – 1985. – Vol. 808. – P. 353–362.
279. Stewart W.D.P. Algal Physiology and Biochemistry / W.D.P. Stewart. – Berkeley: University of California Press, 1974. – 989 p.

280. Straus W. Colometric microdetermination of cytochrome *c* oxidase / W. Straus // J. Biol. Chem. – 1954. – Vol. 207, N 2. – P. 733.
281. Sushchik N.N. A temperature dependence of the intra- and extracellular fatty-acid composition of green algae and cyanobacterium / N.N. Sushchik, G.S. Kalacheva, N.O. Zhila [et al.] // Russ. J. Plant Physiol. – 2003. – Vol. 50. – P. 374–380.
282. Sushchik N.N. Associating particulate essential fatty acids of the ω 3 family with phytoplankton species composition in a *Siberian reservoir* / N.N. Sushchik, M.I. Gladyshev, O.N. Makhutova [et al.] // Freshwater Biol. – 2004. – Vol. 49, N 9. – P. 1206–1219.
283. Takaichi S. Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions / S. Takaichi // Mar. Drugs. – 2011. – Vol. 9. – P. 1101–1118.
284. Tanaka Y. Acclimation of the photosynthetic machinery to high temperature in *Chlamydomonas reinhardtii* requires synthesis de novo of proteins encoded by the nuclear and chloroplast genomes / Y. Tanaka, Y. Nishiyama, N. Murata // Plant Physiol. – 2000. – Vol. 124, N 1. – P. 441–449.
285. Teoh M.L. Effect of temperature change on physiology and biochemistry of algae: a review / M.L. Teoh, W.L. Chu, S.M. Phang // Malaysian Journal of Science. – 2010. – Vol. 29, N 2. – P. 82–97.
286. Thomas P.G. Increased thermal stability of pigment-protein complexes of pea thylakoids following catalytic hydrogenation of membrane lipids / P.G. Thomas, P.J. Dominy, L. Vigh [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 1986. – Vol. 849. – P. 131–140.
287. Thompson L.K. Molecular basis of the heat denaturation of photosystem II / L.K. Thompson, R. Blaylock, J.M. Sturtevant, G.W. Brudvig // Biochemistry. – 1989 – Vol. 28. – P. 6686–6695.
288. Tjahjono A. E. Hyper accumulation of astaxanthin in a green alga *Haematococcus pluvialis* at elevated temperatures / A.E. Tjahjono, Y. Hayama, T. Kakizono [et al.] // Biotechnol. Lett. – 1994. – Vol.16. – P. 133–138.

289. Toro G. Plant respiration under low oxygen / G. Toro, M. Pinto // *Chilean Journal of Agricultural Research*. – 2015. – Vol. 75. – P.57– 70.
290. Tripathi U. Effect of culture conditions on growth of green alga – *Haematococcus pluvialis* and astaxanthin production / U. Tripathi, R. Sarada, G.A. Ravishankar // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2002. – Vol. 24, N 3. – P. 323–329.
291. Vanacker H. Oxidative modifications to cellular components in plants / H. Vanacker, L. Sandalio, A. Jiménez // *J. Exp. Bot.* – 2006. – 57(8). – P. 1747–1758.
292. Vanlerberghe G.C. Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants / G.C. Vanlerberghe // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14, N 4. – P. 6805-6847.
293. Vermaas W.F. Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria / W.F. Vermaas // *Encyclopedia of Life Sciences*. – London: Nature Publishing Group, 2001. – P. 245–251.
294. Vona V. Temperature responses of growth, photosynthesis, respiration and NADH: nitrate reductase in cryophilic and mesophilic algae / V. Vona, V.D.M. Rigano, O. Lobosco [et al.] // [New Phytologist](#). – 2004. – Vol. 163, N 2. – P. 325–331.
295. Wada H. Contribution of membrane lipids to the ability of the photosynthetic machinery to tolerate temperature stress / H. Wada, Z. Gombos, N. Murata // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. – 1994. – Vol. 91. – P. 4273–4277.
296. Wagner A.M. Structure and function of the plant alternative oxidase: its putative role in the oxygen defence mechanism / A. M. Wagner, A. L. Moore // *Biosci. Rep.* – 1997. – Vol. 17, N 3. – P. 319–333.
297. Wagner H. Freshwater phytoplankton responses to global warming / H. Wagner, A. Fanesi, C. Wilhelm // *J. Plant Physiol.* – 2016. – Vol. 203, N 20. – P. 127–134.

298. Wolfe-Simon F. The role and evolution of superoxide dismutases in algae / F.Wolfe-Simon, D. Grzebyk, O. Schofield [et al.] // J. Phycol. – 2005. – Vol. 41, N 3. – P. 453–465.
299. Yamada K. Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana* / K.Yamada, Y. Fukao, M. Hayashi [et al.] // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282, N 52. – P. 37794–37804.
300. Yuan C.Y. Effect of temperature on the growth and biochemical composition of *Sargassum muticum* / C.Y. Yuan, S. Yang, Y. Wang, Q.M. Cui // Advanced Materials Research. – 2014. – Vol. 989-994. – P. 747-750.
301. Zalutskaya Z. The *Chlamydomonas reinhardtii* alternative oxidase 1 is regulated by heat stress / Z. Zalutskaya, T. Lapina, E. Ermilova // Plant Physiol Biochem. – 2015. – Vol. 97. – P. 229-234
302. Zargar S.S. Temperature-induced stress on growth and expression of hsp in freshwater alga *Scenedesmus quadricauda* / S.S. Zargar, K.K. Krishnamurthi, S.S. Saravana Devi [et al.] // Biomed Environ Sci. – 2006. – Vol. 19, N 6. – P. 414–421.
303. Zhang X.Y. Tetraploidization of diploid *Dioscorea* results in activation of the antioxidant defense system and increased heat tolerance / X.Y. Zhang, C.G. Hu, J.L.Yao // J. Plant Physiol. – 2010. – Vol. 167, N 2. – P. 88–94.
304. Zhang L.-l. Responses of nitrogen metabolism to copper stress in *Luffa cylindrica* roots / L.-l. Zhang, X.-j. He, M. Chen [et al.] // J. Soil Sci. Plant Nutr. – 2014. – Vol. 14, N 3. – P. 616–624.
305. Zou D. The photosynthetic and respiratory responses to temperature and nitrogen supply in the marine green macroalga *Ulva conglobata* (Chlorophyta) / D. Zou, K. Gao // Phycologia. – 2014. – Vol. 53, N 1. – P. 86–94.