ISSN 0868-854 (Print)

ISSN 2413-5984 (Online). Algologia. 2019, 29(4): 404–420

<https://doi.org/10.15407/alg29.04.404>

БОДНАР О.І.¹, ГЕРЦ А.І.¹, ГЕРЦ Н.В.², ГРУБІНКО В.В.¹

Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка,

¹кафедра загальної біології та методики навчання природничих дисциплін,

²кафедра ботаніки та зоології,

вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль 46027, Україна

bodnar@chem-bio.com

ВМІСТ ПІГМЕНТІВ ТА ФОТОСИНТЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ

CHLORELLA VULGARIS BEIJERINCK (*CHLOROPHYTA*) ЗА ДІЇ НАТРІЮ СЕЛЕНІТУ, ЦИНКУ СУЛЬФАТУ І ХРОМУ ХЛОРИДУ

Досліджували вміст фотосинтетичних пігментів, їхнє співвідношення та первинні процеси фотосинтезу у *Chlorella vulgaris* за спільної та окремої дії солей мікроелементів Селену (натрій селеніт), Цинку (цинк сульфат) і Хрому (хром хлорид). Виявлено тенденцію до збільшення загального вмісту хлорофілів *a* та *b* і каротиноїдів за всіх варіантів впливу з найбільш помітним ефектом при спільній дії Селену та Цинку. Водночас, показник співвідношення хлорофілів *a/b* зменшувався в результаті підвищення вмісту хлорофілу *b*. При зміні параметрів індукції флуоресценції хлорофілів зростав рівень нефотохімічного гасіння хлорофілу (NPQ_t) у варіанті спільної дії солей Селену та Хрому. Разом з тим, зростання відносного вмісту хлорофілу та незначна зміна показника ймовірної частоти втрат LEF за дії досліджених солей свідчить про функціонування механізмів забезпечення стабільності роботи фотосинтетичного апарату у *C. vulgaris* та запобігання його інактивації.

Ключові слова: Селен, Цинк, Хром, *Chlorella vulgaris*, пігменти, індукція флуоресценції хлорофілу

Вступ

Інтерес до потенційних комерційних сполук з мікроводоростей зумовлений необхідністю з'ясування механізмів підвищення їхньої стресостійкості, збільшення продуктивності, інтенсифікації метаболізму та активації тих чи інших біосинтетичних процесів з метою отримання сполук з високою біологічною активністю. До того ж, висока здатність мікроводоростей до біоаккумуляції хімічних елементів (особливо солей металів і неметалів), які вносять у середовище культивування, та утворення їхніх біокомплексів з внутрішньоклітинними макромолекулами *in vitro* відкриває перспективу отримання біологічно активних добавок, збагачених необхідними для організму мікроелементами, наприклад Селеном та іонами деяких біогенних металів (Doucha et al., 2009). Вплив солей металів та неметалів на фотосинтетичну активність мікроводоростей є предметом багатьох досліджень, актуальність яких не

© Боднар О.І., Герц А.І., Герц Н.В., Грубінко В.В., 2019

зменшується через мінливість та динамічність умов вирощування в природних і модельних умовах (Полищук и др., 2009; Mysliwa-Kurdziel et al., 2004). З огляду на зазначене, а також враховуючи високий біологічний потенціал та адаптивні можливості водоростей, актуальним є подальший розвиток нових методів та напрямів у вивченні процесів фотосинтезу за різних чинників середовища зростання (Kuhlgert et al., 2016).

Відомо, що надлишок іонних форм металів та неметалів у середовищі існування негативно впливає на всі реакції фотосинтетичного апарату (ФСА), особливо при синтезі первинних продуктів фотосинтезу (Kumar et al., 2014). Зі збільшенням концентрації цих хімічних сполук у водному середовищі можуть змінюватися структурно-функціональні властивості хлоропластних мембран, порушуватися діяльність світлозбирального (СЗК) та кисневидільного комплексів, гальмуватися функціонування фотосистем I та II (ФСІ, ФСІІ), фотосинтетичного електронного транспортного ланцюга (ФЕТЛ), блокуватися пентозофосфатний цикл, тощо (Полищук и др., 2009; Kupper et al., 2002; Mysliwa-Kurdziel et al., 2004; Ou-Yang et al., 2012).

Обрані нами досліджені елементи хоча і є есенціальними, за умов підвищених концентрацій стають досить токсичними для рослинних організмів. Тому важливо було вивчити їхній вплив на пігментний склад та первинні процеси фотосинтезу (ППФ) мікроводоростей, оскільки від цих показників залежить загальна продуктивність культури та подальше її практичне використання, зокрема як збагаченої мікроелементами біосубстанції для отримання фармпрепаратів і кормових добавок (Doucha et al., 2009; Bodnar et al., 2018).

Використання Cr(III) в експериментальних моделях доцільніше, ніж використання Cr(VI), адже останній виступає як кисень, утворюючи оксианіони, що легко проникають через клітинні мембрани за рахунок сульфатної транспортної системи та провокують окисні процеси. Гальмування більшості фотосинтетичних процесів та руйнування реакційних центрів (РЦ) за дії Cr(VI) спостерігали у *Chlamydomonas* (Rodriguez et al., 2007), *Chlorella pyrenoidosa* H.Chick і *C. kessleri* (Horcsik et al., 2007), *Euglena gracilis* G.A.Klebs (Rocchetta, Kupper, 2009) і *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing (Zemri et al., 2012). Водночас Cr(III) у відповідно підібраних концентраціях суттєво не впливає на життєдіяльність водоростей (Kovacik et al., 2015), а навіть активізує окремі ланки метаболізму в них та сприяє біосинтезу окремих сполук з високою біологічною активністю (Lukashiv et al., 2017; Bodnar et al., 2018). Цинк як найважливіший елемент ряду фотосинтетичних ензимних систем має суттєві стимулюючі властивості. Так, Zn^{2+} у концентрації 5 мкМ підвищує квантовий вихід ФСІІ у *C. vulgaris* (Ou-Yang et al., 2012). При цьому дефіцит його в *E. gracilis* негативно впливає на морфогенез і клітинний цикл, що пов'язано з участю останнього в регуляції генетичних процесів (Einicker-Lamas et al., 2002).

Щодо Селену, то попередні дослідження науковців свідчать про переваги поглинання Se(IV) порівняно з Se(VI), а його вплив на мікроводорості є видоспецифічним і значною мірою залежить від фізико-хімічних параметрів самого середовища та концентрації Селену в ньому. Він є необхідним компонентом антиоксидантної системи і може регулювати біосинтез поліненасичених жирних кислот, каротиноїдів і хлорофілів (Zhou et al., 1997), впливаючи на фотосинтез й енергетичний обмін (Sun et al., 2014) та збільшуючи біопродуктивність культури.

Таким чином, зміни на рівні ФСА за дії мікроелементів можуть слугувати маркерами для оцінки загального функціонального стану, ефективності формування адаптаційних реакцій водоростей та продукційних процесів за різних умов культивування.

Тому нашою метою було дослідити вплив натрій селеніту окремо та за спільної дії з цинком сульфату або хромом хлориду на пігментний склад, функціональний стан ФСА одноклітинної зеленої водорості *Chlorella vulgaris* через зміну параметрів індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) для ефективного отримання збагаченої мікроелементами біомаси.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на мікропопуляціях альгологічно чистої культури *Chorella vulgaris* ССАР-211/11в, яку вирощували в умовах накопичувальної культури на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема № 11 за температури 22–24 °С та освітлення 2500 лк упродовж 16 та 8 год (Топачевский, 1975). До культури водоростей додавали водний розчин селеніту натрію в розрахунку на Se(IV) – 10 мг/дм³ окремо та спільно із солями металів ZnSO₄·7H₂O чи CrCl₃·6H₂O у перерахунку на Zn(II) – 5 мг/дм³ або Cr(III) – 5 мг/дм³ (Bodnar et al., 2016, 2018; Lukashiv et al., 2017). Контролем слугувала культура, вирощена у середовищі без селеніту та солей металів.

Вміст хлорофілів *a* та *b* і каротиноїдів визначали спектрофотометрично за довжиною хвиль з максимумом поглинання: 440, 630, 645, 663, 750 нм після екстракції пігментів 90%-вим розчином ацетону (Мусієнко та ін., 2001). Відповідно до умов культивування водоростей було сформовано 4 варіанти (контроль та 3 дослідні). Кожен з них мав 5 паралельних повторностей. Стан фотосинтетичного апарату *C. vulgaris* оцінювали методом ІФХ. Вимірювання проводили за допомогою РАМ-флуорометра MultispeQ V1.0 (США). Квантову ефективність (Φ_{PSII}) ФСПІІ = $(F'_m - F_s)/F'_m$ визначали відповідно до літературних даних (Genty et al., 1989; Maxwell, Johnson, 2000). Частку світлової енергії, що поглинається ФСПІІ і втрачається через нерегульовані процеси (ϕ_{NO}) та нефотохімічне гасіння (ϕ_{NPQ}), розраховували за літературними даними (Kramer et al., 2004). Для оцінки параметрів флуоресценції хлорофілу (ФХ) з кожного варіанту відбирали 6 аліквот водоростей об'ємом 10 мл кожна. Сумарна кількість аналітичних вимірів на варіант, враховуючи 5 біологічних повторностей, становила не менше $n = 30$. Перед вимірюванням ФХ усі аліквоти вирівнювали за вмістом в них хлорофілу

та за оптичною щільністю з метою коректного розрахунку параметрів ФХ (Myers et al., 2013).

Статистичну обробку даних, зокрема описову статистику, дисперсійний аналіз ANOVA з використанням критерію достовірної різниці групових середніх Тьюкі (Honestly Significant Difference), виконували за допомогою програмного забезпечення (ПЗ) R-studio. Для цього використовували бібліотеки psych (<https://cran.r-project.org/web/packages/psych/index.html>) та multcomp (<https://cran.r-project.org/web/packages/multcomp/index.html>). Попередньо вибірки оцінювали на нормальність розподілу та однорідність дисперсії. Після аналізу дисперсії й спростування нульової гіпотези робили post-hoc аналіз – HSD тест Тьюкі. Результати тесту виводились засобами бібліотеки multcomp (у роботі представлені лише для параметрів Φ_{PSII} , ΦNPQ) у вигляді коробчатих діаграм, що відображають результати всіх попарних порівнянь середніх значень варіантів досліджень (рис. 2, 3).

Для узагальнення даних та виявлення взаємозв'язків між кількісними змінними використано метод багатомірного аналізу – метод головних компонент Principal component analysis (Jolliffe, 2002). Аналіз здійснювали в середовищі R-Studio з використанням бібліотеки FactoMineR (<https://cran.r-project.org/web/packages/FactoMineR/index.html>). Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез у дослідженні приймали рівним 0,05.

Результати та обговорення

Вплив досліджуваних мікроелементів на вміст пігментів у Chlorella vulgaris

Висока лабільність фотосинтетичного апарату на рівні первинних світлових реакцій визначає адаптивні перебудови у рості й розвитку культури мікроводоростей за несприятливих умов, оскільки первинні реакції оптимізують потік електронів та енергетичний баланс у клітинах. З одного боку, це забезпечує скидання надлишку енергії в умовах пристосувальної реакції, з іншого – первинні фотосинтетичні реакції за цих умов можуть бути пусковим механізмом регуляції співвідношення швидкостей світлових і темнових реакцій фотосинтезу, продукти якого визначають подальшу ефективність адаптивних процесів. Важливим критерієм оцінки фотосинтезу є вміст фотосинтетичних пігментів, концентрація і співвідношення яких визначають адаптивні можливості клітин (Sun et al., 2014). За обраних концентрацій та комбінацій мікроелементів вміст пігментів у клітинах хлорели збільшувався в усіх варіантах дослідів (рис. 1). Внесення селеніту окремо у середовище культивування зумовило зростання вмісту пігментів у *C. vulgaris* хлорофілу *a* на 35,7%, хлорофілу *b* – на 48,2%, каротиноїдів – на 38,0% порівняно з контролем.

Рис. 1. Вміст пігментів у клітинах *Chlorella vulgaris* за дії натрій селеніту 10 мг Se(IV)/дм³ окремо та спільно з Zn(II) або Cr(III) – по 5 мг/дм³, мкг/дм³; $M \pm m$; 7-а доба; * – $p < 0,05$ різниця вірогідна порівняно з контролем

У літературних посиланнях (Sun et al., 2014) також показано суттєве збільшення кількості пігментів (хлорофілів та каротиноїдів) у *C. vulgaris* за дії Селену, який вносили у середовище культивування водорості як натрію селеніту в концентраціях 25–200 мг Se/дм³. Усі дослідні варіанти демонстрували позитивну динаміку порівняно з контролем. Провівши водночас додаткові дослідження (накопичення Se біомасою, активність антиоксидантних ензимів, рівень активних форм кисню та ліпопероксидації), ми вважаємо за доцільне використовувати *C. vulgaris* як селеновмісну харчову добавку для людей і тварин за умови культивування водорості, яка містить Селен у середовищі вирощування в кількості ≤ 75 мг Se/дм³.

Спільна дія солей Селену і Цинку сприяла суттєвому збільшенню вмісту пігментів у клітинах водорості відносно контролю: вміст хлорофілу *a* зріс на 46,2%, хлорофілу *b* – на 279,3%, каротиноїдів – на 60,8%. Ці зміни можуть бути пов'язані зі стимулюючою дією Цинку як компонента карбоангідрази та збільшенням кількості розмірів тилакоїдів (Ou-Yang et al., 2012). Присутність іонів Хрому також спричиняла підвищення вмісту хлорофілу та каротиноїдів, але значно менше: вміст хлорофілу *a* збільшився на 23,8%, хлорофілу *b* – на 56,3%, каротиноїдів – на 25,4%. Зазвичай Cr(III) провокує пероксидне окиснення, а відповідно – негативні зміни в структурі та функціях хлоропластів. Проте, на нашу думку, присутній Se(IV) є протектором цієї дії, що й позначилося на незначному збільшенні вмісту пігментів.

На фоні загального збільшення кількості фотосинтетичних пігментів показник співвідношення хлорофілів *a/b* загалом зменшувався у всіх варіантах досліду. За дії селеніту окремо та спільно із солями Цинку та Хрому показник співвідношення порівняно з контрольним значенням зменшився відповідно на 8,9; 48,1 та 20,9%. Відомо, що співвідношення хлорофілів *a/b* характеризує потенційну фотохімічну та біосинтетичну

активність. Так, за стресових впливів швидше відбувається втрата функціональної активності хлорофілу *a* порівняно з хлорофілом *b* та накопичення останнього (Фомішина та ін., 2009). Відповідно, співвідношення між обома формами пігменту зменшується, що й спостерігається у наших дослідних варіантах (див. рис. 1). При цьому пігментний індекс (відношення каротиноїдів до хлорофілу) може збільшуватися, передусім, за рахунок посиленого утворення каротиноїдів, які виконують як допоміжну, так і захисну функції (Rodrigues et al., 2007; Фомішина та ін., 2009). Ці зміни спостерігалися у дослідних варіантах за дії Селену й Селену з Хромом, коли індекс збільшився відповідно на 3,12 і 6,25% відносно контролю. За спільного впливу Селену й Цинку відбувалося зниження пігментного індексу на 15,6%, що обумовлено значним збільшенням вмісту хлорофілу *b*. Ймовірним поясненням такого явища може бути ефект модифікації розмірів СЗК іонами Zn у деяких *Bacillariophyta* (Nguyen-Deroche et al., 2012). Відомо, що за дії Цинку у водорості *Nostoc hopsislobatus* підвищується антиоксидантний потенціал, збільшується кількість тетрапіролів та амінолевулінової кислоти (Pandey, Pandey, 2008), які разом із 5'-амінолевуліновою дегідратазою (КФ 4.2.1.24) визначають швидкість синтезу хлорофілів (Chiba, Kikuchi, 1984). Водночас концентрації Цинку від 0,1 до 5,0 мг/дм³ сприяють підвищенню експресії мРНК гену *rbcL*, а відтак обумовлюють часткове збільшення кількості ензиму рибулозобіфосфаткарбоксилази (РБФК), що в кінцевому результаті позначається на фотосинтетичних процесах та збільшенні вмісту хлорофілу у *Sargassum thunbergii* (Lü et al., 2018).

Отже, найбільше на вміст пігментів у *C. vulgaris* впливає одночасна дія солей Селену і Цинку, а за спільної дії солей Селену і Хрому, який є досить токсичним для водоростей (Horcsik et al., 2007; Kovacik et al., 2015), відбувається лише незначне зростання їхньої кількості. Це, вочевидь, є наслідком запобігання окисненню ліпідів мембран хлоропластів та руйнування хлорофілу за дії селеніту, що забезпечується антиоксидантним механізмом захисту клітин водорості, який посилюється Селеном. Окрім цього, зміни вмісту хлорофілів можуть прямо залежати від змін кількості каротиноїдів, які завдяки своїм антиоксидантним властивостям теж беруть участь у захисті мембран від фотоокислення та знешкодження пероксидних радикалів, а тому вміст зелених пігментів у клітині певною мірою обумовлений кількістю каротиноїдів (Mysliwa-Kurdziel et al., 2004).

Вплив досліджуваних мікроелементів на первинні процеси фотосинтезу у *Chlorella vulgaris*

Відомо, що кожний поглинений пігментами квант світла може або індукувати первинне розділення зарядів у реакційних центрах фотосистем, або дисипувати в тепло чи висвітитися у вигляді кванта флуоресценції. В залежності від стану ФСА та зовнішніх умов шляхи реалізації енергії квантів світла можуть змінюватися (Pospisil, 2016).

Фотосинтетичні процеси та механізми активно проявляються у різних індукційних явищах, зокрема у флуоресценції хлорофілу (ФХ), що дозволяє отримувати дані про фізико-хімічний стан і функціональну активність фотосинтетичного апарату (ФСА). Процеси регуляції активності ФСII у мікрроводоростей за впливу чинників середовища, які визначаються за параметрами змінної флуоресценції, описані в літературі (Rocchetta, Kupfer, 2009; Zemri et al., 2012; Kumar et al., 2014). Застосування цих показників ґрунтується на тому, що їхні зміни корелюють зі зміною інтенсивності фотосинтезу (див. таблицю).

Таблиця

Флуоресцентні параметри та відносний вміст хлорофілів у *Chlorella vulgaris* за дії натрій селеніту 10 мг Se(IV)/дм³ окремо та спільно із солями Zn(II) і Cr(III) – по 5 мг/дм³, 7-а доба, відн. од., $M \pm SD$

Показник	Контроль	Se(IV)	Se(IV) + Zn(II)	Se(IV) + Cr(III)
Φ_{PSII}	0,544 $\pm$ 0,016	0,553 $\pm$ 0,009*	0,548 $\pm$ 0,009	0,480 $\pm$ 0,007*
NPQt	2,864 $\pm$ 0,156	2,690 $\pm$ 0,127*	2,780 $\pm$ 0,131*	4,041 $\pm$ 0,105*
ϕNPQ	0,33 $\pm$ 0,016	0,32 $\pm$ 0,011*	0,33 $\pm$ 0,010	0,41 $\pm$ 0,007*
ϕNO	0,118 $\pm$ 0,001	0,121 $\pm$ 0,002*	0,120 $\pm$ 0,002*	0,103 $\pm$ 0,001*
qL	0,946 $\pm$ 0,026	0,933 $\pm$ 0,014*	0,937 $\pm$ 0,016	0,952 $\pm$ 0,013
LEF	2,475 $\pm$ 0,103	2,536 $\pm$ 0,099*	2,496 $\pm$ 0,077	2,172 $\pm$ 0,123*
Fv'/Fm'	0,558 $\pm$ 0,009	0,589 $\pm$ 0,008*	0,563 $\pm$ 0,008*	0,491 $\pm$ 0,005*
SPAD	19,781 $\pm$ 0,089	21,355 $\pm$ 0,049*	20,901 $\pm$ 0,034*	21,864 $\pm$ 0,090*

* – $p < 0,05$ різниця вірогідна порівняно з контролем; Φ_{PSII} – квантова ефективність ФСII; NPQt – нефотохімічне гасіння, оцінене без темної адаптації; ϕNPQ – квантовий вихід NPQ, ϕNO – частка світлової енергії, що поглинається ФСII та втрачається через нерегульовані процеси; qL – частка відкритих реакційних центрів ФСII; LEF – лінійний електронний транспорт; Fv'/Fm' – ефективність електронного транспорту відкритими реакційними центрами ФСII; SPAD – відносний вміст хлорофілу

Про специфічність впливу досліджених іонів на біосинтетичні процеси *C. vulgaris* у кожному з варіантів і відносний вміст хлорофілу (SPAD) у водоростях свідчать дані таблиці. Цей параметр широко використовується як індикатор нітрогенового статусу рослин і є месенджером первинних проявів стресу (Kuhlgert et al., 2016). В усіх дослідних варіантах порівняно з контролем SPAD достовірно зростає.

Це узгоджується з наведеними вище даними щодо абсолютного вмісту фотосинтетичних пігментів у *C. vulgaris* і свідчить про відсутність пригнічення біосинтезу хлорофілу у *C. vulgaris* за дії солі Селену окремо і одночасної дії солей Селену та Цинку чи Селену і Хрому.

У роботі J. Petrovi et al. (2006) досліджено механізми утворення комплексів металів з хлорофілом і описано їхні гіпотетичні структури з ймовірним впливом на параметри флуоресценції пігментів. Показано, що комплекс Cu-Chl утворюється переважно шляхом заміщення Cu центрального атому Mg хлорофілу, тоді як із Zn формується периферичне 6-членне циклічне хелатне кільце, де Zn у положенні між C-13² і C-13¹ відіграє координаційну роль між двома О-атомами. Такі зміни впливатимуть на параметри флуоресценції змінених хлорофілів, оскільки координація (C-13³) = О і металу робить подвійний (карбонільний) зв'язок довшим, а тому зумовлює перехід до нижчих довжин хвиль. Той факт, що зміни більш виражені для Zn-Chl (1729,8 проти 1736,8 см⁻¹ (Chl *a*), ніж для Cu-Chl (1732,5 проти 1736,8 см⁻¹ (Chl *a*)) свідчить про високу спорідненість Zn і хлорофілу (Petrovic et al., 2006), а відтак – їхню швидку взаємодію.

Подальші результати вивчення показали певну чутливість фотохімічних процесів ФСII до дії досліджуваних мікроелементів, особливо за спільної дії Селену і Хрому, оскільки змінився параметр величини Φ_{PSII} , яка характеризує квантову ефективність ФСII *C. vulgaris* (рис. 2). Тобто, зміна фотохімічних процесів у *C. vulgaris*, вочевидь, залежить від хімічних властивостей певного мікроелементу.

Рис. 2. Ефективний квантовий вихід фотохімічних реакцій у ФС II (Φ_{PSII}) у клітинах *C. vulgaris* за дії натрій селеніту 10 мг Se(IV)/дм³ окремо та спільно з Zn(II) або Cr(III) – по 5 мг/дм³; відн. од.; 1-, 3-, 7-а доба

Тривалість культивування не змінює характеру дії солей Селену, Цинку і Хрому на ФСА (див. рис. 2, 3). Факт зростання значень

параметрів флуоресценції на 3- та 7-у добу в усіх варіантах та контролі пояснюється поступовим збільшенням біомаси та кількості клітин *C. vulgaris* упродовж досліджуваного періоду, внаслідок чого абсорбція флуоресценції хлорофілу в середовищі зростає, що призводить до зменшення максимальної флуоресценції (F_m), а відтак – до вищих показників Φ_{PSII} , ϕNPQ та ϕNO (див. рис. 2, 3). Однак встановлено, що включно до 96-ї доби вплив важких металів (Cu, Pb, Cd, Zn і Cr) чітко проявлявся на квантовому виході PSII у *C. vulgaris*, незважаючи на відповідне збільшення й приріст біомаси водоростей у культурі (Ou-Yang et al., 2012). Серед усіх дослідних варіантів часткове пригнічення Φ_{PSII} спостерігається лише з першої доби за одночасної дії солей Se та Cr (див. рис. 2). Можливо, це обумовлено редокс-активністю Cr, адже вважається, що Cr разом із такими металами, як Fe та Cu, на відміну від Zn і Se, відноситься до групи редокс-активних.

Рис. 3. Частка світлової енергії, яка використовується на нефотохімічне гасіння (ϕNPQ) у *C. vulgaris* за дії натрій селеніту (10 мг Se(IV)/дм³) окремо та спільно із солями Zn(II) і Cr(III) – по 5 мг/дм³; відн. од.; 1-, 3-, 7-а доба

Дослідження впливу металів на функціонування фотосинтетичного апарату показали, що електронегативні Zn^{2+} ($E^\circ = -0,763$ В), Cd^{2+} ($E^\circ = -0,403$ В) та Pb^{2+} ($E^\circ = -0,126$ В) інгібують швидкість транспорту електронів від первинного хінонового акцептора Q_A до вторинного Q_B , а більш електропозитивні Cu^{2+} ($E^\circ = +0,153$ В) і Hg^{2+} ($E^\circ = +0,427$ В) активують його (Kumar et al., 2014). Проте деякі дослідники акцентують увагу на більш токсичній та інгібуючій фотосинтез дії власне іонів Cr та Cu порівняно з Zn та Cd (Полищук, Топчий, 2009; Ou-Yang et al., 2012).

У дослідних і контрольних зразках *C. vulgaris* ефективність електронного транспорту відкритими центрами ФСII (F_v'/F_m') коливалася у межах 0,49–0,57. Це разом з відсутністю лінійного взаємозв'язку між Φ_{PSII} та qL означає, що стан функціональної

активності ФСII обумовлюється, перш за все, рівнем нефотохімічного гасіння (ΦNPQ). Зв'язок qL з Φ_{PSII} є нелінійним, а значення qL (близько 0,9) свідчать про досить високий рівень окиснення Q_A . Якщо на першу та третю добу в усіх дослідних варіантах достовірно ($p < 0,05$) знижувалася частка відкритих реакційних центрів, то на сьому добу відмінностями можна знехтувати.

Важливим механізмом захисту ФСА рослин та водоростей від фотоінгібування є теплова дисипація надлишкової світлової енергії, яку оцінюють за параметром нефотохімічного гасіння (NPQ) під час моніторингу методом індукції флуоресценції хлорофілу (рис. 3).

Той факт, що ΦNPQ у дослідних варіантах суттєво відрізняється у варіанті зі спільним використанням Se та Cr (див. таблицю), свідчить про існування механізмів забезпечення стабільності роботи фотосинтетичного апарату у *C. vulgaris* та запобігання його інактивації. Хоча альтернативні шляхи окиснення пулу Q_A повинні сприяти збільшенню Φ_{PSII} , вони не завжди призводять до вищих показників лінійного перенесення електронів (LEF) (Kuhlgert et al., 2016). Зокрема, дія окремо Селену та сумісно із Селеном та Цинком активує LEF, поєднання дії солей Селену з Цинком, та особливо із Хромом, навпаки, має слабо виражений або частково інгібуючий ефект.

Згідно до літературних даних (Genty et al., 1989), Φ_{PSII} є добутком qL і F_v'/F_m' , а нестача залежності (у нашому випадку) між Φ_{PSII} та qL означає, що зміни Φ_{PSII} обумовлюються показником F_v'/F_m' , тобто ефективністю електронного транспорту відкритими реакційними центрами та ефективністю первинного перетворення енергії світла у ФСII (Гольцев и др., 2016). Проте, досліджувані нами іони можуть впливати на рівень нефотохімічного гасіння (див. рис. 3). Вочевидь, у випадку, коли імовірність теплової дисипації поглинених квантів зростає, кількість активів фотохімічного розділення зарядів у реакційному центрі знижується, що призводить до зниження інтенсивності потоку електронів, зокрема і LEF (див. таблицю). Рівень нефотохімічного гасіння у світлозбиральній антені *C. vulgaris* за спільної дії солей Se та Cr свідчить про зростання частки розсіювання енергії в СЗКII і, відповідно, про зниження частки її утилізації, що підтверджується параметром ІФХ NPQt. Значення мінімальної флуоресценції хлорофілу (F_0'), які суттєво зростають ($p < 0,05$) за одночасної дії солей Cr та Se (контроль – $2727 \pm 112,31$; Se(IV) + Cr(III) – $3127 \pm 31,57$; $M \pm SD$), є підтвердженням того, що зміни відбуваються саме на рівні світлозбиральних комплексів ФСII (СЗКII). Знижується також ефективність передачі енергії збудження між пігментами самого СЗК та на реакційний центр (РЦ) ФСII, що може бути пов'язано із дисоціацією СЗКII від ядра ФСII (Kramer et al., 2004).

Дані, наведені на рис. 3, свідчать про те, що ΦNPQ була нижчою у водоростей, які культивувалися за дії лише солі Se. Нижчий рівень нефотохімічного гасіння в антені свідчить про менше розсіювання

енергії в СЗКП і, відповідно, зростання утилізації енергії, що підтверджується вищим значенням параметру Φ_{PSII} .

Зважаючи на те, що культивування *C. vulgaris* відбувалося при освітленості 2500–2700 лк і про надлишкове світло (енергія якого не може бути безпечно реалізованою у фотосинтетичних реакціях) мова не йдеться, вважаємо, що саме присутність іонів металів Zn(II) або Cr(III) у середовищі стала одним з основних чинників часткової інактивації комплексів ФСII.

Для узагальнення даних і з метою виявлення взаємозв'язків між усіма змінними та візуалізації кількісних змінних, що корелюють між собою, використано метод головних компонент (МГК, PCA). У нашому випадку (рис. 4) перша головна компонента (Фактор 1) описує 54,8% усієї варіації даних, що стосується біофізичних, а, відтак, і фізіолого-біохімічних процесів у *C. vulgaris*. Друга головна компонента (Фактор 2) охоплює 17,8% дисперсії. Отже, більшу частину (72,6%) усіх реакцій, що виникли в результаті зміни умов культивування, описують дві компоненти. У зв'язку з тим, що досліджувані параметри мають певну чутливість до стресових чинників, вони по-різному вносять свою частку у формування основних компонент.

Рис. 4. Проекція основних параметрів флуоресценції хлорофілу *Chlorella. vulgaris* на факторну площину за дії натрій селеніту (10 мг Se(IV)/дм³) окремо та спільно з Zn(II) і Cr(III) – по 5 мг/дм³; 7-а доба (Phi2 – Φ_{PSII} , PhiNPQ – ϕNPQ та PhiNO – ϕNO , FvP.FmP – Fv'/Fm' , Chla – хлорофіл *a*, Chlb – хлорофіл *b*, Kar – каротиноїди, Relative. Chlorophyll – відносний вміст хлорофілу (SPAD)

Дані щодо *C. vulgaris* контрольної групи (позначена як Blank (Control)) займають найбільшу за площею ділянку площини Фактор 1/Фактор 2 (див. рис. 4). Дослідні варіанти зміщуються по осі координат

(Фактор 1), і це зміщення, зазвичай, вище у водоростей, які знаходяться за стресових умов. Відхилення від контролю обумовлені в основному змінними, які формують компоненту Фактор 1. Самі ж досліджувані флуоресцентні параметри, що характеризують стан ФСII, представлені у скорельованому вигляді та проєктуються на варіанти досліджень. Негативно скорельовані змінні позиціонуються на протилежному боці рисунка.

На нашу думку, важливою є тенденція (зокрема, на 7-у добу в порівнянні з першою) до зменшення розкиду даних (див. рис. 2, 3). Спостерігаємо наближення верхнього та нижнього кuartилів до медіани, а відтак, зменшення інтеркuartильного розмаху. Припускаємо, цей факт зумовлений тривалістю культивування.

Отже, враховуючи розподіл вибірки в площині Фактор 1/Фактор 2, який є неоднорідним, можна виділити два відносно добре виокремлені кластери. Перший включає дані контрольної групи та груп *C. vulgaris*, що росли за дії селеніту окремо та солі Se з Zn. Другий кластер – *C. vulgaris* – за спільної дії солей Se та Cr. Це означає, що є особливості, які можуть бути використані як маркери фенотипу (параметри флуоресценції) для розмежування зразків всередині групи. Таким маркером (показником) може слугувати параметр NPQ_t, а відтак і NPQ.

Наразі не має жодного спільного висновку щодо впливу солей металів чи неметалів на фотосинтетичні процеси у рослин загалом та у водоростей зокрема, оскільки часто отримані дані різняться щодо одних і тих самих видів і умов дослідження.

Висновки

Результати досліджень щодо вмісту фотосинтетичних пігментів, змін у їхньому співвідношенні та функціональної активності фотосинтетичного апарату свідчать про адаптацію *Chlorella vulgaris* до впливу солей Селену, Цинку і Хрому за умов внесення їх у культуральне середовище в запропонованих концентраціях. У зв'язку з цим при концентрації селеніту Se(IV) 10 мг/дм³ окремо та спільно з іонами Zn(II) (5 мг/дм³) або Cr(III) (5 мг/дм³) упродовж 7 діб можливе успішне культивування хлорели з високою продуктивністю культури. Це, у свою чергу, важливо для отримання збагаченої Селеном та біогенними металами альгобіомаси у виробництві відповідних біотехнологічно корисних продуктів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Гольцев В.Н., Каладжи Х.М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С. 2016. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений. *Физиол. раст.* 63(6): 881–907.
- Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. 2001. *Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин*. Київ: Фітосоціоцентр. 200 с.

- Полищук А.В., Топчий Н.Н., Сытник К.М. 2009. Влияние ионов тяжелых металлов на перенос электронов на акцепторной стороне фотосистемы II. *Доп. НАН України*. 6: 203–210.
- Топачевский А.В. 1975. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике*. Киев: Наук. думка. 247 с.
- Фомішина Р.М., Сиваш О.О., Захарова Т.О., Золотарьова О.К. 2009. Роль хлорофілази в адаптації рослин до умов освітлення. *Укр. бот. журн.* 66(1): 94–102.
- Bodnar O.I., Burega N.V., Palchyk A.O., Viniarska H.B., Grubinko V.V. 2016. Optimization of *Chlorella vulgaris* Beij. cultivation in a bioreactor of continuous action. *Biotechnol. Acta*. 9(4): 42–49.
- Bodnar O.I., Kovalska H.B., Grubinko V.V. 2018. Regulation of biosynthesis of lipids in *Chlorella vulgaris* by compounds of zinc, chromium and selenium. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 9(2): 267–274.
- Chiba M., Kikuchi M. 1984. The *in vitro* effects of zinc and manganese on delta-aminolevulinic acid dehydratase activity inhibited by lead or tin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 73(3): 388–394.
- Doucha J., Livansky K., Kotrbacek V., Zachleder V. 2009. Production of *Chlorella* biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: A review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 83(6): 1001–1008.
- Einicker-Lamas M., Mezian G.A., Fernandes T.B., Silva F.L., Guerra F., Miranda K., Attias M., Oliveira M.M. 2002. *Euglena gracilis* as a model for study of Cu²⁺ and Zn²⁺ toxicity and accumulation in eukaryotic cells. *Environ. Pollut.* 120(3): 779–786.
- Genty B., Briantais J.-M., Baker R. N. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* 990(1): 87–92.
- Horscik Z.T., Kovacs L., Laposi R., Meszaros I., Lakatos G., Garab G. 2007. Effect of chromium on photosystem 2 in the unicellular green alga, *Chlorella pyrenoidosa*. *Photosynthetica*. 45(1): 65–69.
- Jolliffe I.T. 2002. Principal Component Analysis. New York: Springer-Verlag. 488 p.
- Kováčik J., Babula P., Hedbavny J., Krystofova O., Provaznik I. 2015. Physiology and methodology of chromium toxicity using alga *Scenedesmus quadricauda* as model object. *Chemosphere*. 120: 23–30.
- Kramer D., Johnson G., Kiirats O., Edwards G.E. 2004. New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Res.* 79(2): 209–218.
- Kuhlgert S., Austic G., Zegarac R., Osei-Bonsu I., Hoh D., Chilvers M.I., Roth M.G., Bi K., TerAvest D., Weebadde P., Kramer D.M. 2016. Multispe Q Beta: a tool for large-scale plant phenotyping connected to the open Photosyn Q network. *Roy. Soc. Open Sci.* 3(10): 160592.
- Kumar K.S., Dahms H.U., Lee J.S., Kim H.C., Lee W.C., Shin K.-H. 2014. Algal photosynthetic response to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 104: 51–71.
- Kupper H., Setlik I., Spiller M., Frithjof C., Kupper F.C., Prasil O. 2002. Heavy metal induced inhibition of photosynthesis: targets of *in vivo* heavy metal chlorophyll formation. *J. Phycol.* 38: 429–441.

- Lu F., Gang D., Liu W., Zhan D., Wu H., Guo W. 2018. Comparative study of responses in the brown algae *Sargassum thunbergii* to zinc and cadmium stress. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 36(3): 933–941.
- Lukashiv O.Ya., Bodnar O.I., Grubinko V.V. 2017. Accumulation of Chromium and Selenium inside cells and in lipids of *Chlorella vulgaris* Beij. during the incubation from chromium by sodium chloride and selenium. *Int. J. Algae.* 19(4): 357–366. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v19.i4.60>
- Maxwell K., Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51(345): 659–668.
- Myers J.A., Curtis B.S., Curtis W.R. 2013. Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density. *BMC Biophys.* 6: 1–4.
- Mysliwa-Kurdziel B., Prasad M.V., Strazalaka K. 2004. Photosynthesis in heavy metal stress plants. In: *Heavy Metal Stressed in Plants*. New Delhi: Narosa Publ. House. Pp. 146–181.
- Nguyen-Deroche T.N., Caruso A., Le T.T., Bui T.V., Schoefs B., Tremblin G., Morant-Manceau A. 2012. Zinc affects differently growth, photosynthesis, antioxidant enzyme activities and phytochelatin synthase expression of four marine diatoms. *Sci. World J.* Article ID 982957.
- Ou-Yang H.L., Kong X.Z., He W., Qin N., He Q.S., Wang Y., Wang R., Xu F.L. 2012. Effects of five heavy metals at sublethal concentrations on the growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. *Chin. Sci. Bull.* 57: 3363–3370.
- Pandey U., Pandey J. 2008. Enhanced production of high-quality biomass, delta-aminolevulinic acid, bilipigments, and antioxidant capacity of a food alga *Nostoc hapsislobatus*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 150(2): 221–231.
- Petrovic J., Nikolic G., Markovic D. 2006. *In vitro* complexes of copper and zinc with chlorophyll. *J. Serb. Chem. Soc.* 71(5): 501–512.
- Pospisil P. 2016. Production of reactive oxygen species by photosystem II as a response to light and temperature stress. *Front. Plant Sci.* 7: 1950.
- Rocchetta I., Kupper H. 2009. Chromium- and copper-induced inhibition of photosynthesis in *Euglena gracilis* analysed on the single-cell level by fluorescence kinetic microscopy. *New Phytol.* 182(2): 405–420.
- Rodriguez M.C., Barsanti L., Passarelli V., Evangelista V., Conforti V., Gualtieri P. 2007. Effects of chromium on the photosynthetic and photoreceptive apparatus of the alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Res.* 105(2): 234–239.
- Sun X., Zhong Y., Huang Z., Yung Y. 2014. Selenium accumulation in unicellular green algae *Chlorella vulgaris* and its effects on antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments. *PLoS ONE.* 29(11): 1–8.
- Zemri K., Amar Y., Boutiba Z., Zemri M., Popovic R. 2012. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the effect of chromium on activity photosystem II at the alga *Scenedesmus obliquus*. *Int. J. Res. Rev. Appl. Sci.* 2(2): 304–314.
- Zhou Z., Li P., Liu Z., Liu X. 1997. Study on the accumulation of selenium and its binding to the proteins, polysaccharides and lipids from *Spirulina maxima*, *S. platensis* and *S. subsalsa*. *Oceanol. Limnol. Sin.* 28(4): 363–370.

Надійшла 24.02.2019

Підписала до друку О.К. Золотарьова

REFERENCES

- Bodnar O.I., Burega N.V., Palchyk A.O., Viniarska H.B., Grubinko V.V. 2016. Optimization of *Chlorella vulgaris* Beij. cultivation in a bioreactor of continuous action. *Biotechnol. Acta*. 9(4): 42–49.
- Bodnar O.I., Kovalska H.B., Grubinko V.V. 2018. Regulation of biosynthesis of lipids in *Chlorella vulgaris* by compounds of zinc, chromium and selenium. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 9(2): 267–274.
- Chiba M., Kikuchi M. 1984. The *in vitro* effects of zinc and manganese on delta-aminolevulinic acid dehydratase activity inhibited by lead or tin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 73(3): 388–394.
- Doucha J., Livansky K., Kotrbacek V., Zachleder V. 2009. Production of *Chlorella* biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: A review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 83(6): 1001–1008.
- Einicker-Lamas M., Mezian G.A., Fernandes T.B., Silva F.L., Guerra F., Miranda K., Attias M., Oliveira M.M. 2002. *Euglena gracilis* as a model for study of Cu²⁺ and Zn²⁺ toxicity and accumulation in eukaryotic cells. *Environ. Pollut.* 120(3): 779–786.
- Fomishyna R.M., Syvash O.O., Zakharova T.O., Zolotareva O.K. 2009. The role of chlorophyllase in the adaptation of plants to lighting conditions. *Ukr. Bot. J.* 66(1): 94–102.
- Genty B., Briantais J.-M., Baker R. N. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* 990(1): 87–92.
- Goltsev V.N., Kaladzhi Kh.M., Paunov M., Baba V., Khorachek T., Moiski J., Kocel H., Allahverdiev S. 2016. Using variable chlorophyll fluorescence to assess the physiological state of the photosynthetic apparatus of plants. *Rus. J. Plant Physiol.* 63(6): 881–907.
- Horesik Z.T., Kovacs L., Laposi R., Meszaros I., Lakatos G., Garab G. 2007. Effect of chromium on photosystem 2 in the unicellular green alga, *Chlorella pyrenoidosa*. *Photosynthetica*. 45(1): 65–69.
- Jolliffe I.T. 2002. *Principal Component Analysis*. New York: Springer-Verlag. 488 p.
- Kováčik J., Babula P., Hedbavny J., Krystofova O., Provaznik I. 2015. Physiology and methodology of chromium toxicity using alga *Scenedesmus quadricauda* as model object. *Chemosphere*. 120: 23–30.
- Kramer D., Johnson G., Kiirats O., Edwards G.E. 2004. New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Res.* 79(2): 209–218.
- Kuhlgert S., Austic G., Zegarac R., Osei-Bonsu I., Hoh D., Chilvers M.I., Roth M.G., Bi K., TerAvest D., Weebadde P., Kramer D.M. 2016. Multispe Q Beta: a tool for large-scale plant phenotyping connected to the open Photosyn Q network. *Roy. Soc. Open Sci.* 3(10): 160–592.
- Kumar K.S., Dahms H.U., Lee J.S., Kim H.C., Lee W.C., Shin K.-H. 2014. Algal photosynthetic response to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll *a* fluorescence. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 104: 51–71.

- Kupper H., Setlik I., Spiller M., Frithjof C., Kupper F.C., Prasil O. 2002. Heavy metal induced inhibition of photosynthesis: targets of *in vivo* heavy metal chlorophyll formation. *J. Phycol.* 38: 429–441.
- Lu F., Gang D., Liu W., Zhan D., Wu H., Guo W. 2018. Comparative study of responses in the brown algae *Sargassum thunbergii* to zinc and cadmium stress. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 36(3): 933–941.
- Lukashiv O.Ya., Bodnar O.I., Grubinko V.V. 2017. Accumulation of Chromium and Selenium inside cells and in lipids of *Chlorella vulgaris* Beij. during the incubation from chromium by sodium chloride and selenium. *Int. J. Algae.* 19(4): 357–366. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v19.i4.60>
- Maxwell K., Johnson G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51(345): 659–668.
- Musienko M.M., Parshikova T.V., Slavnyi P.S. 2001. *Spectrophotometric methods in the practice of physiology, biochemistry and ecology of plants*. Kyiv: Phytosociocenter Press. 200 p.
- Myers J.A., Curtis B.S., Curtis W.R. 2013. Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density. *BMC Biophysics.* 6: 1–4.
- Mysliwa-Kurdziel B., Prasad M.V., Strazalaka K. 2004. In: *Heavy Metal Stressed in Plants*. New Delhi: Narosa Publ. House. Pp. 146–181.
- Nguyen-Deroche T.N., Caruso A., Le T.T., Bui T.V., Schoefs B., Tremblin G., Morant-Manceau A. 2012. Zinc affects differently growth, photosynthesis, antioxidant enzyme activities and phytochelatin synthase expression of four marine diatoms. *Sci. World J.* Article ID 982957.
- Ou-Yang H.L., Kong X.Z., He W., Qin N., He Q.S., Wang Y., Wang R., Xu F.L. 2012. Effects of five heavy metals at sublethal concentrations on the growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris*. *Chin. Sci. Bull.* 57: 3363–3370.
- Pandey U., Pandey J. 2008. Enhanced production of high-quality biomass, delta-aminolevulinic acid, bilipigments, and antioxidant capacity of a food alga *Nostoc hapsislobatus*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 150(2): 221–231.
- Petrovic J., Nikolic G., Markovic D. 2006. *In vitro* complexes of copper and zinc with chlorophyll. *J. Serb. Chem. Soc.* 71(5): 501–512.
- Polishchuk A.V., Topchiy N.N., Sytnik K.M. 2009. The influence of heavy metal ions on electron transfer on the acceptor side of photosystem II. *Rep. NAS Ukr.* 6: 203–210.
- Pospisil P. 2016. Production of reactive oxygen species by photosystem II as a response to light and temperature stress. *Front. Plant Sci.* 7: 1950.
- Rocchetta I., Kupper H. 2009. Chromium- and copper-induced inhibition of photosynthesis in *Euglena gracilis* analysed on the single-cell level by fluorescence kinetic microscopy. *New Phytol.* 182(2): 405–420.
- Rodriguez M.C., Barsanti L., Passarelli V., Evangelista V., Conforti V., Gualtieri P. 2007. Effects of chromium on the photosynthetic and photoreceptive apparatus of the alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Res.* 105(2): 234–239.
- Sun X., Zhong Y., Huang Z., Yung Y. 2014. Selenium accumulation in unicellular green algae *Chlorella vulgaris* and its effects on antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments. *PLoS ONE.* 29(11): 1–8.
- Topachevsky A.V. 1975. *Methods of physiological and biochemical studies of algae in hydrobiological practice*. Kiev: Naukova Dumka Press. 247 p. [Rus.]

- Zemri K., Amar Y., Boutiba Z., Zemri M., Popovic R. 2012. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the effect of chromium on activity photosystem II at the alga *Scenedesmus obliquus*. *Int. J. Res. Rev. Appl. Sci.* 2(2): 304–314.
- Zhou Z., Li P., Liu Z., Liu X. 1997. Study on the accumulation of selenium and its binding to the proteins, polysaccharides and lipids from *Spirulina maxima*, *S. platensis* and *S. subsalsa*. *Oceanol. Limnol. Sin.* 28(4): 363–370.

Algologia 2019, 29(4): 404–420

<https://doi.org/10.15407/alg29.04.404>

Bodnar O.I.¹, Herts A.I.¹, Herts N.V.², Grubinko V.V.¹

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
2 M. Kryvonosa Str., Ternopil 46027, Ukraine

¹Department of General Biology and Methods of Teaching Natural Sciences,

²Department of Botany and Zoology

THE CONTENT OF PIGMENTS AND PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF *CHLORELLA VULGARIS* BEIJERINCK (*CHLOROPHYTA*) WHEN EXPOSED TO SODIUM SELENITE, ZINC SULPHATE, AND CHROMIUM CHLORIDE

The content of photosynthetic pigments, their ratio and primary photosynthesis processes in *Chlorella vulgaris* were investigated by the combined and separate action of salts of trace elements Selenium (sodium selenite), Zinc (zinc sulfate) and Chromium (chromium chloride). The tendency to increase the total content of chlorophylls *a* and *b* and carotenoids with all options for the impact of trace elements was revealed. The combined action of Selenium and Zinc demonstrated the most noticeable effect. At the same time, the chlorophyll *a/b* ratio decreased as a result of the increase in the chlorophyll *b* content. As the chlorophyll fluorescence induction parameters changed, the level of non-photochemical chlorophyll quenching (NPQt) in the joint action of the salts of Selenium and Chromium increased. However, an increase in the relative content of chlorophyll and a slight change in the probable rate of loss of linear electron flow (LEF) in the action of the studied salts reveal the functioning of mechanisms to ensure the stability of the photosynthetic apparatus in *C. vulgaris* and prevent its inactivation.

Key words: *Chlorella vulgaris*, pigments, Selenium, Zinc, Chromium, fluorescence chlorophyll induction