



УДК [577.352.4:544.354-128.4]582.263

А. І. Луців, В. В. Грубінко

Особливості поглинання Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} і Pb^{2+} клітинами *Chlorella vulgaris* Beijer.

(Представлено академіком НАН України В. Д. Романенком)

Досліджено особливості поглинання Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} і Pb^{2+} клітинами *Chlorella vulgaris* Beijer. Встановлено, що накопичення іонів металів є флюктуаційним. Виділено чотири його етапи: захисна самоізоляція клітин як результат первинної стрес-реакції; активне накопичення (зниження опірності і руйнування зовнішньої мембрани); пригнічення накопичення, пов'язане з утворенням вторинної концентричної мембрани; неконтрольоване накопичення в результаті руйнування вторинної концентричної мембрани. Кінетичні показники накопичення Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} і Pb^{2+} свідчать про те, що процес поглинання іонів відбувається за змішаним типом інгібування та визначається спорідненістю до іонів мембранних металезв'язуючих білків, після насичення їх сайтів зв'язування процес стає неконтрольованим.

Еволюція водоростей відбувалася за наявності в середовищі їх існування іонів різних металів, у тому числі в токсичних концентраціях. У результаті в них сформувалися механізми токсикорезистентності, що підтримують оптимальний їх рівень у клітинах. Іони багатьох металів у певних концентраціях є ефективними регуляторами метаболізму, особливо азотно-го та ліпідного, що, з одного боку, є екологічним фактором регуляції стану їх популяцій, а з іншого — перспективним у біотехнології аквакультури водоростей [1, 2]. Щодо акумуляції металів одноклітинними водоростями, незалежно від їх належності до окремих таксономічних та екологічних груп, вони можуть накопичувати мікроелементи в концентраціях, які в тисячі разів вищі за їх вміст у воді [3, 4], однак до певної межі, перевищення якої викликає незворотні зміни метаболізму та загибель рослин [5].

Первинним бар'єром проникнення іонів металів до клітин водоростей є клітинна оболонка та плазмолема, які здійснюють їх захоплення шляхом взаємодії з компонентами та їх функціональними групами [6]. Інтенсивність проникнення іонів металів визначають: їх концентрація у зовнішньому середовищі, взаємодія з мембранами та спорідненість до них складових клітинних мембран і внутрішньоклітинних компонентів [7, 8]. Вважають, що проникнення іонів металів у клітини здійснюється як шляхом дифузії, так і за допомогою активного транспорту [6]. Крім того, показано [9], що акумуляція важких металів у гідро-

© А. І. Луців, В. В. Грубінко, 2013

біонтів є динамічним процесом, який розвивається за градієнтом часу, характеризується певною інтенсивністю та специфічністю.

У зв'язку з відсутністю системного уявлення про механізм накопичення іонів металів клітинами водоростей метою цього дослідження було з'ясування кінетичних параметрів проникнення Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} та Pb^{2+} у клітини водорості *Chlorella vulgaris* Beijer.

Об'єктом досліджень була одноклітинна зелена водорість *Ch. vulgaris* Beijer., культуру якої вирощували при температурі 20 ± 1 °C і освітленні 2500 лк в люменостаті в скляних колбах (250 дм³) на мінеральному середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхе-ма [10], що містило згідно з прописом крім інших катіонів 0,058 мг/дм³ Mn^{2+} і 0,023 мг/дм³ Zn^{2+} і не містило Cu^{2+} та Pb^{2+} . В експериментальних умовах до культури водорості додавали водні розчини $MnSO_4$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $Pb(NO_3)_2$ з розрахунку на іон: Mn^{2+} — 0,1, 0,2, 0,5 мг/дм³; Zn^{2+} — 1,0, 2,0, 5,0 мг/дм³; Cu^{2+} — 0,001, 0,002, 0,005 мг/дм³; Pb^{2+} — 0,1, 0,2, 0,3 мг/дм³. Період інкубації культури водорості з солями металів становив 0,083; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 3; 6; 12; 24; 48; 72; 168 год. Контрольними були клітини, які росли у поживному середовищі без додавання солей металів у експериментальних кількостях.

Реакцію проникнення іонів металів у клітини хлорели зупиняли додаванням 2,5 мМ ЕДТА. Після центрифугування суспензії водоростей (2 000 об/хв) осад промивали розчином поживного середовища, в якому культивували водорості, далі осад спалювали в нітратній кислоті [1]. Вміст металів визначали атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі Selmi C-115 М. Кількість білків у клітинах хлорели визначали за методом Лоурі.

Величини константи Міхаеліса (K_M) і максимальної швидкості проникнення іонів металів (V_{max}) у клітини водорості розраховували графічним методом подвійних зворотних величин у координатах Лайнуівера–Берка, а енергію активації (E_a) визначали за допомогою графічного методу Арреніуса [11].

Одержані експериментальні дані опрацьовані методами варіаційної статистики.

У результаті експериментів виявлено флуктуаційний характер процесу накопичення досліджуваних іонів металів клітинами *Ch. vulgaris* Beijer. в концентраційно-часовому градієнті.

Інтенсивність накопичення Mn^{2+} клітинами водорості за дії концентрації металу 0,2 та 0,5 мг/дм³ зменшується протягом 30 хв (рис. 1, а), а за дії концентрації іонів 0,1 мг/дм³ — спочатку зростає (до 0,25 год), а потім також зменшується (до 0,75 год). Надалі відбувається активне накопичення іонів металу (до 24 год) за дії всіх досліджених концентрацій, що можна пояснити порушенням опірності клітинної мембрани, після чого процес пригнічується (до 48 год). При збільшенні тривалості культивування хлорели з Mn^{2+} до 72 і 168 год спостерігається відновлення акумуляції іонів металу за дії концентрацій 0,1; 0,5 і 0,2 мг/дм³ відповідно, з подальшим зниженням інтенсивності.

Цей процес підлягає кінетичній закономірності Міхаеліса–Ментен лише протягом 0,083–0,5 год і 12–168 год (табл. 1). Так, значення V_{max} та K_M накопичення Mn^{2+} зменшуються на 22 та 82% відповідно протягом 0,25 год, потім зростають на 3 та 38% до 0,5 год. Далі V_{max} зростає на 11% з 12 до 24 год, зменшується на 17% до 48 год, знову зростає на 30% до 72 год і зменшується на 12% до 168 год. K_M зменшується на 4% протягом 12–24 год, зростає на 52% до 72 год і зменшується на 25% до 168 год. Енергія активації зв'язування Mn^{2+} зменшується на 77% до 0,25 год, збільшується на 36% до 0,5 год, зменшується на 15% з 12 до 24 год, збільшується на 44% до 72 год та знову зменшується на 14% до 168 год.

Накопичення Zn^{2+} клітинами *Ch. vulgaris* є активним (див. рис. 1, б) (за дії 1,0 мг/дм³ — до 0,5 год; за дії 2,0 і 5,0 мг/дм³ — до 0,75 год), що можна пояснити інтенсивним їх вико-

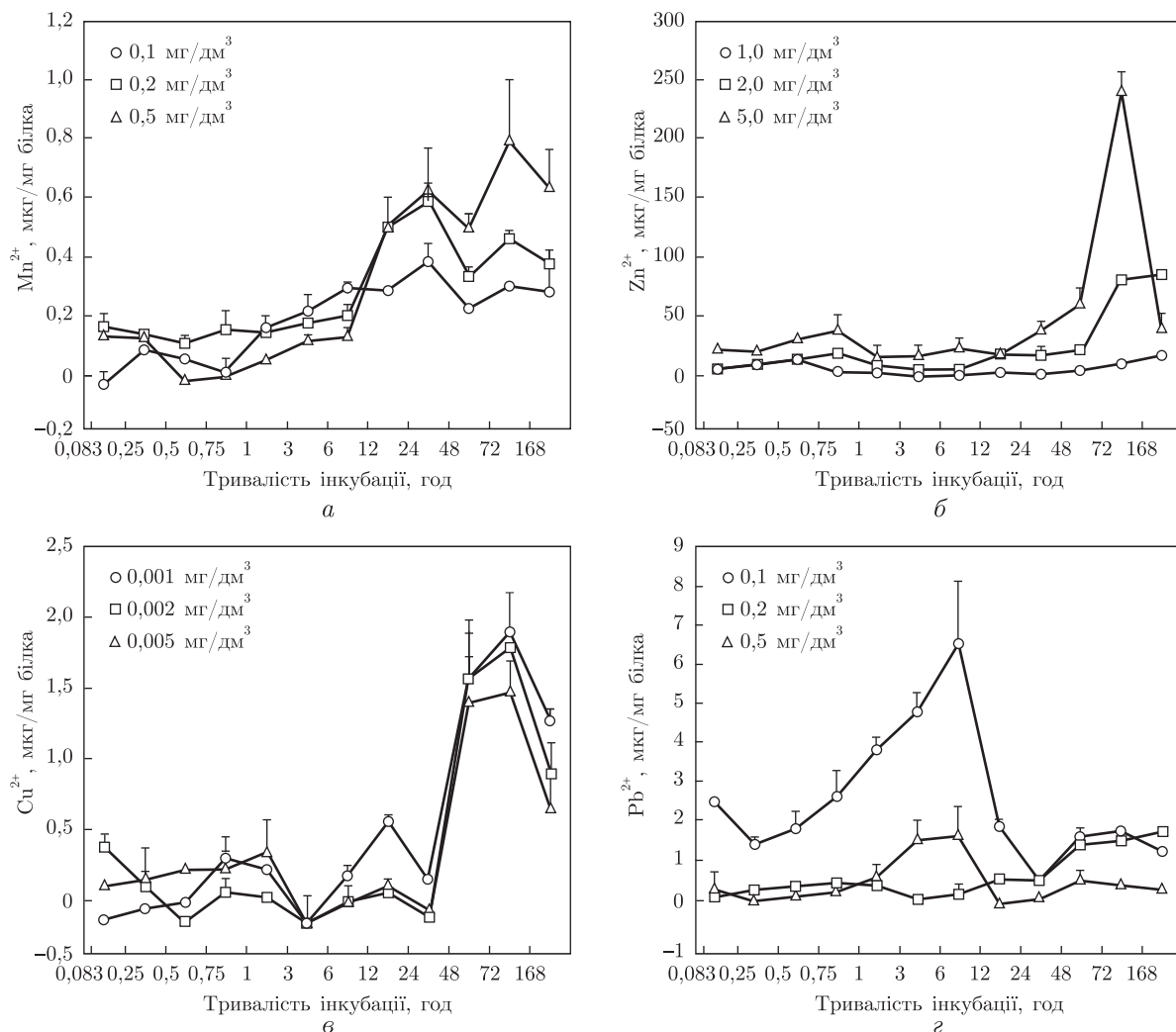


Рис. 1. Накопичення Mn^{2+} (а), Zn^{2+} (б), Cu^{2+} (е) і Pb^{2+} (з) клітинами *Chlorella vulgaris* Beijer.

ристанням у життєдіяльності водорості, і змінюється пригніченням процесу акумулювання (за дії 1,0 і 2,0 mg/dm^3 — до 3 год; за дії 5,0 mg/dm^3 — до 1 год). Далі накопичення іонів металу активується (за дії 1,0 і 2,0 mg/dm^3 — до 168 год; за дії 5,0 mg/dm^3 — до 72 год) з наступним зменшенням поглинання при концентрації 5,0 mg/dm^3 .

Поглинання Zn^{2+} характеризується такими показниками (див. табл. 1). V_{max} накопичення металу збільшується на 28, 60, 38 і 76% протягом 0,083–0,5, 0,75–1, 3–6 і 24–168 год відповідно та зменшується на 28, 75 і 50% протягом 0,5–0,75, 1–3 і 6–24 год відповідно. K_M зменшується на 63, 50, 62 і 63% протягом 0,083–0,25, 1–3, 6–24 год і 48–168 год відповідно та збільшується на 89, 25 і 25% протягом 0,25–1, 3–6 і 24–48 год відповідно. E_a зв'язування Zn^{2+} змінюється таким чином: протягом перших 0,5 год зменшується на 65%, потім до 3 год зростає на 88%, надалі до 12 год зменшується на 44%, до 24 год зростає на 10% і знову зменшується на 88% до 168 год.

Активне поглинання Cu^{2+} відбувається протягом 0,75 і 1 год при культивуванні хлорели за дії концентрації металу 0,001 і 0,005 mg/dm^3 відповідно (див. рис. 1, е). За дії 0,002 mg/dm^3

Таблиця 1. Кінетичні параметри накопичення Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} клітинами *Chlorella vulgaris* Beijer.

Тривалість інкубації, год	Mn^{2+}			Zn^{2+}			Cu^{2+}			Pb^{2+}		
	V_{max} , мкмоль \times \times (год \cdot мг білка) $^{-1}$	K_M	$E_a, \times 10^{-3}$, кДж \times \times мкмоль $^{-1}$	V_{max} , мкмоль \times \times (год \cdot мг білка) $^{-1}$	K_M	$E_a, \times 10^{-3}$, кДж \times \times мкмоль $^{-1}$	V_{max} , мкмоль \times \times (год \cdot мг білка) $^{-1}$	K_M	$E_a, \times 10^{-3}$, кДж \times \times мкмоль $^{-1}$	V_{max} , мкмоль \times \times (год \cdot мг білка) $^{-1}$	K_M	$E_a, \times 10^{-3}$, кДж \times \times мкмоль $^{-1}$
0,083	34,5	0,100	2,90	2000	5,9	2,6	50,0	0,0009	0,018	200	0,50	2,5
0,25	27,0	0,018	0,67	2000	2,2	1,1	53,0	0,0007	0,013	—	—	—
0,5	27,8	0,029	1,05	2778	2,5	0,9	55,5	0,0007	0,012	—	—	—
0,75	—	—	—	2000	6,7	3,3	62,5	0,0014	0,022	—	—	—
1	—	—	—	5000	20,0	4,0	48,78	0,0001	0,002	238	0,22	0,9
3	—	—	—	1250	10,0	8,0	25,0	0,0002	0,006	50	0,50	10,0
6	—	—	—	2000	13,3	6,6	37,0	0,0001	0,004	125	0,67	5,3
12	54,1	0,055	1,02	1250	5,7	4,5	43,5	0,0003	0,006	—	—	—
24	60,6	0,053	0,87	1000	5,0	5,0	33,3	0,0005	0,015	—	—	—
48	50,0	0,067	1,33	2500	6,7	2,6	—	—	—	—	—	—
72	71,4	0,111	1,55	2941	4,3	1,5	—	—	—	—	—	—
168	62,5	0,083	1,33	4167	2,5	0,6	—	—	—	—	—	—

Примітка. “—” — процес не підлягає закономірності Міхаеліса–Ментен.

спостерігається пригнічення поглинання іонів до 0,5 год, що можна пояснити самоізоляцією клітин від металу, з подальшим активуванням до 0,75 год. Далі інтенсивність накопичення іонів металу за дії досліджених концентрацій зменшується до 3 год, потім активується до 12 год, пригнічується до 24 год, повторно активується до 72 год і знову пригнічується до 168 год. У цьому випадку за дії досліджених концентрацій спостерігається акумулювання іонів металу до 0,75 та 1 год і змінюється пригніченням поглинання до 3 год.

Для Cu^{2+} значення V_{\max} (див. табл. 1) збільшується на 20% до 0,75 год, зменшується на 60% до 3 год, знову збільшується на 42% до 12 год і зменшується на 23% до 24 год; значення K_M і E_a зменшуються на 22 і 33%, 92 і 91%, 50 і 33% протягом 0,083–0,5 год, 0,75–1 год, 3–6 год відповідно і збільшуються на 50 і 45%, 50 і 67%, 80 і 73% протягом 0,5–0,75 год, 1–3 год, 6–24 год відповідно. Накопичення іонів металу протягом 48–168 год не підлягає закономірності Міхаеліса–Ментен.

Накопичення Pb^{2+} залежно від концентрації (див. рис. 1, з) є таким: за дії 0,1 мг/дм³ зменшується до 0,25 год, зростає до 6 год, потім зменшується до 24 год, знову зростає до 72 год і зменшується до 168 год; за дії 0,2 мг/дм³ — зростає до 1 год, зменшується до 3 год, потім поступово зростає до 168 год; за дії 0,5 мг/дм³ — зменшується до 0,25 год, далі активується до 6 год, пригнічується до 12 год, повторно активується до 48 год і пригнічується до 168 год.

Процес накопичення Pb^{2+} підлягає закономірності Міхаеліса–Ментен лише протягом 0,083 год та 1–6 год дії (див. табл. 1). V_{\max} поглинання Pb^{2+} зменшується на 79% протягом 1–3 год та збільшується на 60% до 6 год. K_M протягом даного часу зростає на 67%, а E_a збільшується на 91% протягом 1–3 год і зменшується на 47% до 6 год.

Згідно з отриманими результатами, клітини *Ch. vulgaris* активно накопичують Mn^{2+} до 24 год інкубації, Zn^{2+} — до 0,5 год (при 1,0 мг/дм³) і до 0,75 год (при 2,0 і 5,0 мг/дм³), Cu^{2+} — до 0,75 год (при 0,001 мг/дм³) і до 1 год (при 0,005 мг/дм³), Pb^{2+} — до 1 год (при 0,2 мг/дм³) і до 6 год (при 0,1 і 0,5 мг/дм³), контролюючи при цьому проникнення іонів. Надалі накопичення іонів металів істотно пригнічується. Досліджений механізм накопичення іонів металів носить флуктуаційний характер, який можна розділити на чотири етапи: самоізоляція (стрес-реакція) клітин, активне накопичення, пригнічення, відновлене накопичення. Етап самоізоляції — це відповідь клітинного організму на дію стресового чинника, в даному випадку іонів металів. Найбільш яскраво ізоляційна функція клітин виявляється за дії Mn^{2+} (при 0,2 і 0,5 мг/дм³ — до 0,5 год), за дії Cu^{2+} (при 0,002 мг/дм³ — до 0,5 год), за дії Pb^{2+} (при 0,1 і 0,5 мг/дм³ — до 0,25 год). Зниженням опірності первинної клітинної мембрани до досліджених концентрацій металів характеризується етап активного накопичення Mn^{2+} (при 0,1 мг/дм³ — від 0,75 до 24 год; при 0,2 і 0,5 мг/дм³ — від 0,5 до 24 год), Zn^{2+} (при 1,0 мг/дм³ — до 0,5 год; при 2,0 і 5,0 мг/дм³ — до 0,75 год), Cu^{2+} (при 0,001 мг/дм³ — до 0,75 год; при 0,002 мг/дм³ — від 0,5 до 0,75 год; при 0,005 мг/дм³ — до 1 год), Pb^{2+} (при 0,1 і 0,5 мг/дм³ — від 0,25 до 6 год; при 0,2 мг/дм³ — до 1 год), що супроводжується руйнуванням первинної мембрани [8]. Надалі клітини хлорели намагаються контролювати поглинання іонів на етапі вторинного пригнічення. Спостережуваний флуктуаційний характер накопичення іонів співвідноситься з встановленими нами раніше структурно-функціональними перебудовами клітинної оболонки за дії іонів металів, що виявляється у формуванні зі зміною концентрації і тривалості дії іонів металів подвійної концентричної мембрани [2, 8]. Крім того, у клітинах *Ch. vulgaris* при культивуванні з іонами металів виявлені істотні морфологічні зміни, які в основному стосуються потовщення мембран, величини клітин та стану цитоплазми, які спостерігаються вже на першу добу

дії Zn^{2+} та Pb^{2+} . Етап повторної активації процесу накопичення, що має місце за дії Mn^{2+} (при 0,1 і 0,5 мг/дм³ — від 48 до 72 год; при 0,2 мг/дм³ — від 48 до 168 год), Zn^{2+} (при 1,0 і 2,0 мг/дм³ — від 3 до 168 год; при 5,0 мг/дм³ — від 1 до 72 год), Cu^{2+} (при 0,001, 0,002 і 0,005 мг/дм³ — від 24 до 72 год), Pb^{2+} (при 0,1 мг/дм³ — від 24 до 72 год; при 0,2 мг/дм³ — від 3 до 168 год; при 0,5 мг/дм³ — від 12 до 48 год), ймовірно, характеризується руйнуванням вторинної концентричної мембрани [2].

Процес мембранних перебудов за дії іонів металів також узгоджується з порушенням функціонування мембранних АТФази [1], особливо Na^+/K^+ -АТФази — ферменту, який відіграє домінуючу роль в осмо- та іонорегуляції клітин [12]. Так, Zn^{2+} практично не впливають на мембранні АТФази, за винятком високих концентрацій (5,0 мг/дм³), бо мають високу проникність, рухливість в клітині та комплексоутворюючу здатність [13]. Pb^{2+} інгібують АТФазну активність [1], бо характеризуються високою спорідненістю до білків і міцним утримуванням ними цього металу в складі металгтіонеїноподібних комплексів [13]. Щодо Cu^{2+} , то певна їх кількість може зв'язуватися з клітинними мембранами, а інша утворює комплекси з низькомолекулярними органічними речовинами і білками до насичення їх сайтів зв'язування [14]. Найвищу спорідненість до білків серед досліджених концентрацій іонів металів мають Cu^{2+} , а найнижчу — Zn^{2+} . Mn^{2+} витісняють Ca^{2+} з клітинних оболонок [15], у зв'язку з чим їх накопичення лімітується тривалістю антипорту.

Розраховані кінетичні показники узгоджуються з виявленою закономірністю поглинання металів. Зростання V_{max} накопичення Mn^{2+} (0,25–0,5; 12–24; 48–72 год), Zn^{2+} (0,083–0,5; 0,75–1; 3–6; 24–168 год), Cu^{2+} (0,083–0,75; 3–12 год), Pb^{2+} (3–6 год) свідчить про те, що іони металів зв'язуються з молекулами клітинних стінок водоростей та молекулами-переносниками мембран за неконкурентним типом [11]. Поглинання іонів також характеризується зменшенням V_{max} : Mn^{2+} (0,083–0,25; 24–48; 72–168 год), Zn^{2+} (0,5–0,75; 1–3; 6–24 год), Cu^{2+} (0,75–3; 12–24 год), Pb^{2+} (1–3 год), що свідчить про конкурентне інгібування.

Енергія активації зв'язування Mn^{2+} (0,25–0,5; 24–72 год), Zn^{2+} (0,5–3; 12–24 год), Cu^{2+} (0,5–0,75; 1–3; 6–24 год), Pb^{2+} (1–3 год) поверхневою оболонкою водоростей та проникнення через мембрану вказує на те, що процес накопичення металів у вказані проміжки часу є енергозалежним.

Отже, процес поглинання іонів досліджених металів відбувається за змішаним механізмом та визначається спорідненістю металзв'язуючих компонентів мембран, формуванням вторинної концентричної мембрани і її опірністю до металів, тривалістю її структурно-функціональної активності, після втрати якої і насичення сайтів зв'язування іонів металів цитоплазматичними компонентами процес накопичення стає пасивним і неконтрольованим.

Таким чином, накопичення іонів Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} та Pb^{2+} клітинами одноклітинної зеленої водорості *Ch. vulgaris* Beijer. є концентраційно- і часозалежним процесом, який носить флуктуаційний характер для всіх досліджених концентрацій металів. Можна виділити чотири його етапи: захисна самоізоляція клітин як результат первинної стрес-реакції; активне накопичення іонів внаслідок зниження опірності і руйнування клітинної оболонки мембрани; пригнічення накопичення, пов'язане з формуванням вторинної концентричної мембрани [8]; неконтрольоване накопичення, що супроводжується руйнуванням вторинної мембрани. Кінетичні параметри накопичення (K_M , V_{max} , E_a) свідчать про те, що процес поглинання Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} і Pb^{2+} відбувається за змішаним типом інгібування та визначається спорідненістю до іонів металзв'язуючих компонентів мембран і цитоплазми.

1. Боднар О. І. Адаптивні властивості водоростей за дії іонів металів: Автореф. дис. . . . канд. біол. наук. Спец. 03.00.17 "Гідробиологія". – Київ, 2008. – 22 с.
2. Костюк К. В. Структурно-функціональні реакції клітин водних рослин на дію токсикантів: Автореф. дис. . . . канд. біол. наук. Спец. 03.00.17 "Гідробиологія". – Київ, 2011. – 25 с.
3. Jain S. K., Vasudevan P., Jha N. K. Taking off some heavy metals from the pollution water helping of water plant: experiences with *Azolla* // Biol. Wastes. – 1989. – **28**, No 2. – P. 115–126.
4. Whinston A. I., McAuley P. J., Smith V. J. Removal of metals from waste water by marine microalgae // J. Exp. Bot. – 1995. – **46**, No 1. – P. 1–3.
5. Грубинко В. В., Горда А. І., Боднар О. І., Клоченко П. Д. Метаболізм водоростей за дії іонів металів водного середовища (огляд) // Гидробиол. журн. – 2011. – **47**, № 4. – С. 80–95.
6. Антонов В. Ф. Мембранний транспорт // Сорос. образоват. журн. – 1997. – № 6. – С. 6–14.
7. Грубинко В. В. Особенности адаптации одноклеточных пресноводных водорослей к тяжелым металлам // Актуальные проблемы современной альгологии: Тез. докл. IV Междунар. конф., 23–25 мая 2012 г. – Киев, 2012. – С. 83–85.
8. Костюк К. В., Грубинко В. В. Изменение состава клеточных мембран водных растений при воздействии токсических веществ // Гидробиол. журн. – 2012. – **48**, № 2. – С. 77–96.
9. Хоменчук В. О., Курант В. З., Коновець І. М., Арсан В. О., Грубинко В. В. Вплив деяких факторів водного середовища на накопичення важких металів в організмі коропа // Доп. НАН України. – 2000. – № 5. – С. 97–100.
10. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Под ред. А. В. Топачевского. – Киев: Наук. думка, 1975. – 247 с.
11. Варфоломеев С. Д., Гуревич К. Г. Биокинетика: практический курс. – Москва: ФАИР – ПРЕСС, 1999. – 720 с.
12. Lionetto M. G., Giordano M. E., Vilella S., Schettino T. Inhibition of eel enzymatic activities by cadmium // Aquat. Toxicol. – 2000. – **48**, No 4. – P. 561–571.
13. Дмитриева А. Г., Кожанова О. Н., Дронина Н. Л. Физиология растительных организмов и роль металлов. – Москва: Изд-во Моск. ун-та, 2002. – 160 с.
14. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. – Москва: Мир, 1989. – 439 с.
15. Золотухина Е. Ю., Гавриленко Е. Е. Связывание меди, кадмия, железа, цинка и марганца в белках водных макрофитов // Физиол. растений. – 1990. – № 4. – С. 651–658.

Тернопільський національний педагогічний
університет ім. Володимира Гнатюка

Надійшло до редакції 22.11.2012

А. И. Луцив, В. В. Грубинко

Особенности поглощения Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} клетками *Chlorella vulgaris* Beijer.

*Исследовано поглощение Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} клетками *Chlorella vulgaris* Beijer. Установлено, что накопление ионов металлов является флуктуационным. Выделено четыре его этапа: защитная самоизоляция клеток как результат первичной стресс-реакции; активное накопление (снижение сопротивляемости и разрушение внешней мембраны); контроль накопления в связи с образованием вторичной концентрической мембраны; неконтролируемое накопление в результате разрушения вторичной концентрической мембраны. Кинетические показатели накопления Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} свидетельствуют о том, что процесс поглощения ионов происходит по смешанному типу ингибирования и определяется сродством к ионам мембранных металлсвязывающих белков, а после насыщения их сайтов связывания процесс становится неконтролируемым.*

A. I. Lutsiv, V. V. Grubinko

Characteristics of the absorption of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , and Pb^{2+} by cells of *Chlorella vulgaris* Beijer.

*The absorption characteristics of Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , and Pb^{2+} by unicellular green algae *Chlorella vulgaris* Beijer are investigated. The accumulation of metal ions varies. There are 4 stages: the stage of protective isolation of cells as a result of the primary stress response, stage of the active accumulation (decrease in resistance and destruction of the outer membrane), stage of inhibition of the accumulation (formation of the secondary concentric membrane), and stage of uncontrolled accumulation phase (destruction of the secondary concentric membrane). Kinetic parameters of accumulation show that the process of absorption of ions Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , and Pb^{2+} occurs by the mixed type of inhibition and is determined by the affinity of metal-binding proteins to ions. After the saturation of their binding sites, the process becomes uncontrolled.*