

УДК 576.314:576.344 + 581.522.5:582.263

*К. В. Костюк, В. В. Грубинко***ИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАНАХ
ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**

Рассматривается функциональный отклик мембран клеток водных растений на воздействие ионов цинка и свинца и дизельного топлива. Исследованы проницаемость мембран, ионный состав клеток и роль мембранных ферментов в адаптации к токсикантам.

Ключевые слова: водные растения, тяжёлые металлы, дизельное топливо, ионы натрия, ионы калия, ионы магния, ионы кальция, проницаемость мембран, активность мембранных АТФ-аз.

В предыдущих сообщениях [1, 6] нами описаны изменения структуры, качественного и количественного состава мембран клеток водных растений при влиянии ионов цинка и свинца и дизельного топлива. Показано, что одним из механизмов токсикорезистентности водных растений к указанным веществам является образование в их клетках вторичных концентрических мембран. Структурные изменения в мембранах сопровождаются функциональными перестройками. Прежде всего, происходят конформационные изменения и межфазные липид-белковые перестройки, в значительной степени обеспечивающие интенсивность метаболизма клетки и контроль за ним [23]. В основе этого явления лежит гиперплазия эндоплазматического ретикулула [14], сопровождаемая увеличением количества ферментов, ответственных за детоксикацию, изменением интенсивности ионных потоков и проницаемости мембран. Таким образом, обнаруженные нами ранее перестройки в липидном и белковом составе мембран [6] должны сопровождаться изменениями функционирования клеток водных растений.

В предыдущих работах [6, 21] нами показано, что значительную чувствительность к токсикантам проявляют мембранные АТФ-азы, кроме того, активно реагируют на интоксикацию и фосфатазы водных растений [16]. Вместе с тем, связь перестроек мембран водных растений с активностью их ферментов и проницаемостью для ионов при изменении химического состава среды обитания не изучена.

Целью данной работы было изучение индуцируемого токсикантами (тяжёлыми металлами и нефтепродуктами) изменения активности основ-

© К. В. Костюк, В. В. Грубинко, 2014

ных мембранных ферментов, а также проницаемости мембран у водных растений, различающихся как таксономически, так и устойчивостью к токсикантам.

Материал и методика исследований. Исследования проводили на хлорелле *Chlorella vulgaris* Beijer., элодее *Elodea canadensis* Michx и ряске *Lemna minor* L. Условия выращивания водных растений и экспериментальной интоксикации ионами цинка, свинца и дизельным топливом, а также техника выделения мембран описаны нами ранее [1].

Для изучения активности мембранных АТФ-аз получали гомогенаты клеток (их отделяли от среды с помощью мембранных фильтров Сынпор № 4) в 0,005 М трис-НСI буфере, рН 7,6, в соотношении 1 : 5 (сырая биомасса : объем буфера) в механическом гомогенизаторе при скорости 7000 об/мин. Для получения ферментной вытяжки гомогенаты центрифугировали 15 мин при 6000 г. В исследованиях использовали надосадочную суспензию. Все процедуры осуществляли при 4°C.

Реакционная смесь для определения активности АТФ-аз по нарастанию содержания неорганического фосфата содержала 0,5 мл 40 мМ трис-НСI-буфера, 0,1 мл 5 мМ АТФ, 0,1 мл 20 мМ КСI, 0,1 мл 100 мМ NaCl, 0,1 мл 5 мМ MgCl₂ и 0,2 мл гомогената [22]. Реакцию останавливали 10%-ным раствором трихлоруксусной кислоты и центрифугировали 10 мин при 3000 г. К центрифугату добавляли смесь 1 М Na⁺-ацетатного буфера и равных частей 25%-ного раствора молибдата аммония и 2%-ного раствора аскорбиновой кислоты, выдерживали 20 мин и фотометрировали при 600 нм. Активность фермента выражали в мкмоль Р_{неорг}/мг белка·ч.

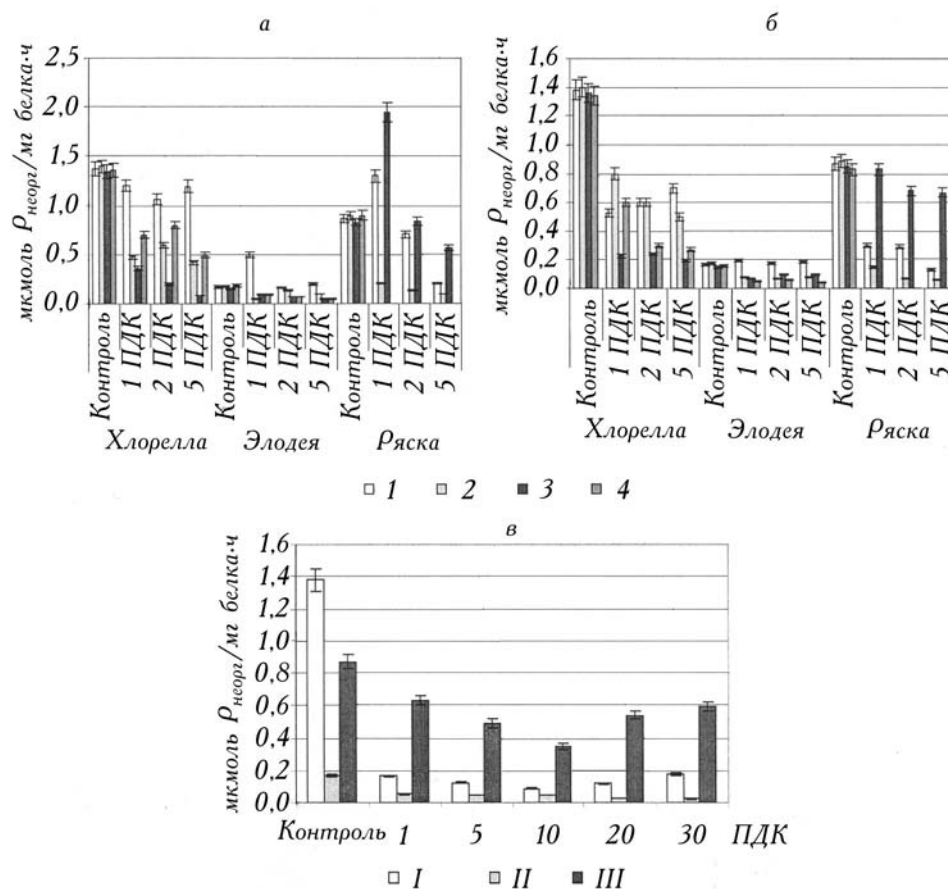
Активность щелочной фосфатазы оценивали в Na⁺-Na⁺-карбонатном буфере (рН 10,0) по расщеплению фенилфосфата до фенола, образующего с 4-аминофеназоном соединение красного цвета, интенсивность окрашивания которого определяли фотометрически при 490 нм [3].

Содержание ионов натрия, калия, магния и кальция измеряли атомно-адсорбционным методом на спектрофотометре Selmi C-115M и выражали в мкг/г сырой массы водных растений. Активную реакцию среды (рН) измеряли ионометрически на ЭВ-74 М в стабилизированной буферной системе.

Проницаемость мембран устанавливали по проникновению в цитоплазму метиленового синего через клеточную мембрану неповрежденных клеток и связыванию его внутриклеточными структурами [10]. Увеличение проницаемости мембран при повреждении клетки соответствует возрастанию содержания проникшего в клетку и связанного с её компонентами красителя. Содержание белков определяли по Лоури [24]. Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики [11].

Результаты исследований и их обсуждение

Проведённые исследования показали, что ионы цинка ингибируют общую АТФ-азную активность мембран (рис. 1, а). Максимальная активность



1. АТФ-азная активность мембран водных растений при действии ионов цинка (а), свинца (б) и дизельного топлива (в, на 14-е сутки). 1, 2, 3 и 4 — соответственно 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки. Здесь и на рис. 4: I — хлорелла; II — элодея; III — ряска.

АТФ-аз отмечена при концентрации 1 и 5 ПДК на первые сутки его воздействия. На 3-и и 7-е сутки АТФ-азная активность снижалась, а на 14-е падала практически до нуля.

Ионы свинца снижают АТФ-азную активность сильнее, чем ионы цинка (см. рис. 1, б), что может быть обусловлено их большей токсичностью. Ионы цинка, как биогенного элемента, слабо влияют на фермент, за исключением высокой концентрации (5 ПДК) и длительного воздействия. Ионы свинца, скорее всего, образуют прочные связи с белковыми компонентами мембран и ингибируют фермент, активность которого частично восстанавливается после долговременного воздействия (больше 14 сут), возможно в результате активации его синтеза.

Видовые различия чувствительности АТФ-аз к исследованным токсикантам проявляются в высокой степени их ингибирования у хлореллы и элодеи.

У ряски происходит первичная активация АТФ-аз при воздействии обоих металлов, по мере возрастания концентрации и продолжительности воздействия активность снижается.

В связи с изложенным можно предположить нарушение исследованными металлами, особенно свинцом, ионного транспорта в мембранах, энергетических процессов и ионного гомеостаза в клетках водорослей, что согласуется с ранее полученными результатами [6]. Высокую степень ингибирования АТФ-азной активности ионами тяжёлых металлов можно рассматривать как защитный механизм (сокращение транспортирования ионов в клетки).

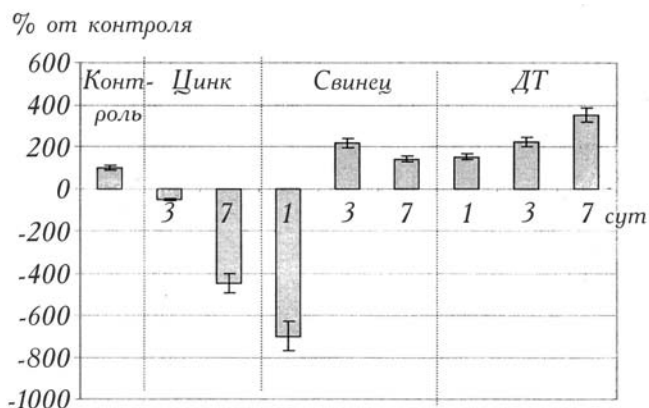
Дизельное топливо при концентрации до 10 ПДК ингибирует АТФ-азную активность в большей степени, чем при 20—30 ПДК (см. рис. 1, в). Известно, что даже небольшое количество углеводородов нефти может подавлять механизмы активного транспорта и увеличивает пассивный транспорт через клеточные мембраны у гидробионтов [17]. Влияние нефти и нефтепродуктов на клетки водных растений обусловлено разрушением липопротеидного комплекса мембран, в результате чего нарушаются биохимические, в том числе транспортные и энергетические, процессы. Частичное восстановление ферментной активности может быть связано с формированием вторичной концентрической мембраны, которая содержит АТФ-азы и осуществляет все свойственные ей функции [1].

Таким образом, тяжёлые металлы и ДТ ингибируют АТФ-азную активность независимо от концентрации, продолжительности воздействия и вида растений. Исходя из этого можно предположить, что мембранные АТФ-азы одними из первых подвергаются воздействию токсикантов и, возможно, принимают участие в уменьшении их проникновения в клетки. При высокой концентрации тяжёлые металлы денатурируют белки, проявляя сродство к разным активным группам их молекул [12].

Модифицирующим воздействием на мембраны обладают также неспецифические фосфатазы, среди которых в клетках наиболее активна щелочная фосфатаза (ЩФ), отщепляющая фосфатные группы от фосфорилированных молекул клеточных мембран. При воздействии цинка активность ЩФ у хлореллы протяжении семи суток снижалась практически в 6 раз по сравнению с контролем (рис. 2), что можно объяснить обратным процессом — фосфорилированием липидов, количество которых в мембранах в этих условиях значительно возрастает [6]. Возможно также фосфорилирование мембранных белков, играющее регуляторную роль в адаптации мембран клеток к стресс-факторам [8].

При воздействии ионов свинца отмечено возрастание активности ЩФ на первые сутки и последующее незначительное снижение на протяжении последующих семи, что согласуется с данными о значительной токсичности ионов свинца для водных растений [1, 6]. В наибольшей степени этот фермент активировался при воздействии ДТ.

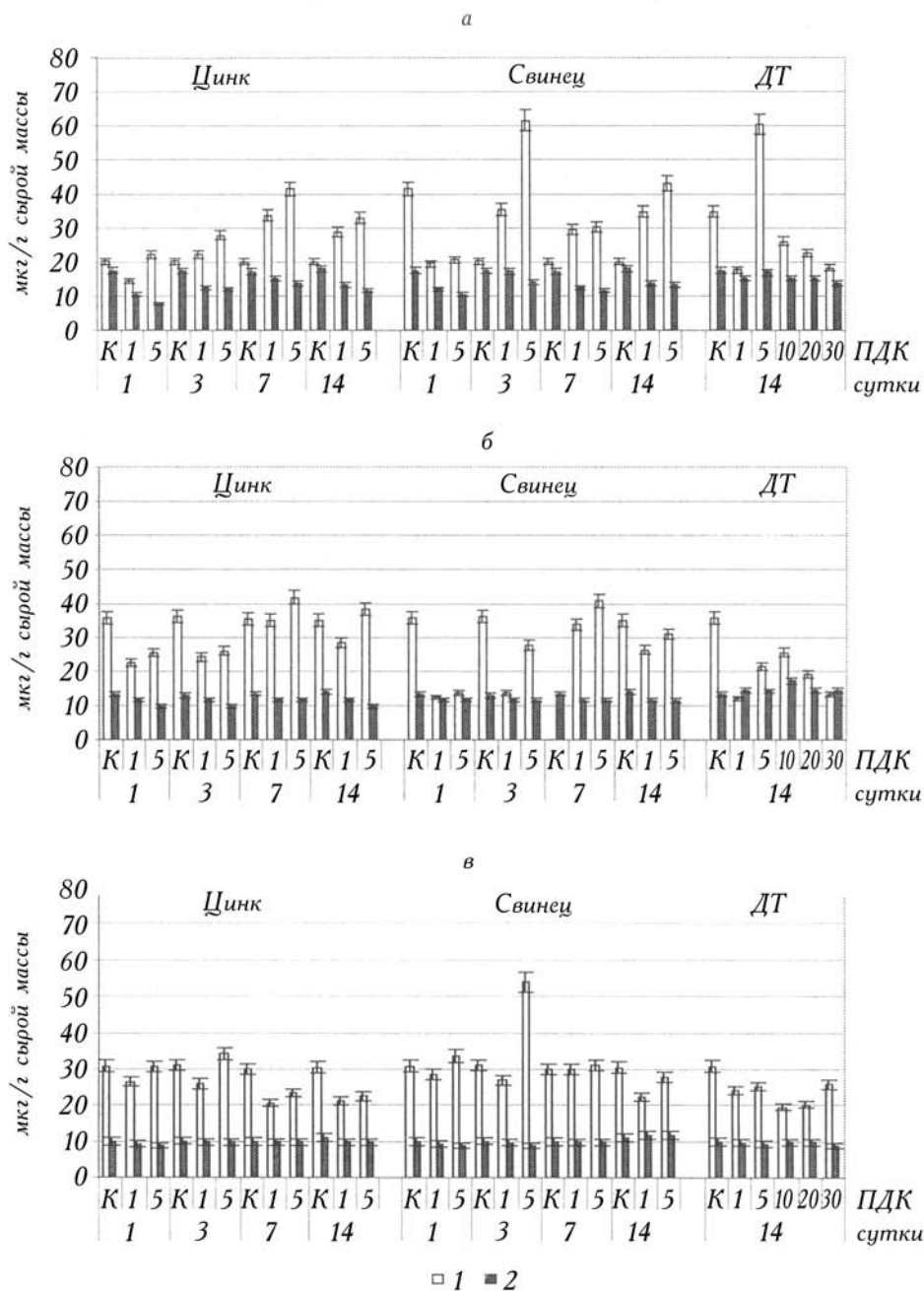
Обнаружена обратная зависимость между активностью ЩФ и АТФ-аз. Это свидетельствует об участии ЩФ в модификации фосфорсодержащих компонентов мембран и формировании пула фосфатных групп для участия в метаболизме и поддержания ионного гомеостаза клеток. Последний также значительно меняется под влиянием токсикантов, поскольку известна определяющая роль ионов в формировании устойчивости мембран к неблагоприятным воздействиям [5]. В клеточных мембранах растений преобладают катионы кальция и магния [13, 20], связывающие липидные слои мембран между собой и с мембранными белками. От соотношения Mg^{2+} и Ca^{2+} зависит конфигурация этих комплексов [4].



2. Активность щелочной фосфатазы в клетках хлореллы при воздействии ионов цинка, свинца и дизельного топлива в концентрации 5 ПДК. $M \pm m$, $n = 3$.

Содержание магния в мембранах исследованных водных растений при воздействии токсикантов увеличивалось (рис. 3). Это особенно заметно после 3—7 сут экспозиции при 5 ПДК металлов. При воздействии ДТ максимальное содержание ионов магния также выявлено при 5 ПДК. Таким образом, оно возрастает по мере увеличения токсичности водной среды. Это может быть связано с модификационными перестройками мембран [1, 6], а также с сохранением функциональной активности АТФ-аз, которые активируются ионами магния [20].

Интересно, что содержание ионов кальция в клетках исследованных водных растений при воздействии токсикантов изменялось незначительно. При этом в клетках хлореллы оно было практически таким же, как и содержание магния, а у ряски и элодеи — в три раза ниже. Ионы Ca^{2+} являются стабилизатором клеточных мембран, поскольку увеличивают их электрическое сопротивление [19]. Можно предположить участие кальция в поддержании ион-электролитного гомеостаза в клетках, а также его определяющую роль в регуляции фосфолипаз, которые катализируют гидролиз фосфолипидов, входящих в состав клеточных мембран, поскольку фосфолипаза А2 является Ca^{2+} -зависимым ферментом и, следовательно, чувствительна к увеличению его концентрации [9]. Таким образом, активация фосфолипаз кальцием может привести к липолитическому разрушению фосфолипидов мембран и гибели клеток, поскольку около 40% сухой массы мембран составляют липиды, из которых 80% приходится на фосфолипиды [1, 6]. Также известно, что структурные изменения в мембранах под влиянием неблаго-



3. Содержание ионов магния (1) и кальция (2) в клетках хлореллы (а), элодеи (б) и ряски (в) при действии ионов цинка, свинца и дизельного топлива. $M \pm t, n = 3$.

приятных воздействий заключаются в освобождении из связанного состояния ионов Ca^{2+} , образующего мостики между карбоксильными группами

белков и полярными головками фосфолипидов [19]. Поэтому, несмотря на утолщение клеточной стенки за счёт образования вторичных концентрических мембран, внутриклеточный гомеостаз кальция предотвращает гидролиз фосфолипидов и, таким образом, поддерживает структурную целостность мембран и их устойчивость к воздействию факторов водной среды.

В связи с обнаруженным эффектом представляет интерес изучение механизма поддержания постоянной концентрации ионов кальция и увеличения содержания ионов магния в клетках. Из полученных данных следует, что, скорее всего, изменялась интенсивность ионных потоков в клетку и наружу. Поскольку перенос ионов через мембрану осуществляется по ионным каналам и регулируется их открытостью и активностью мембранных АТФ-аз, возможен активный транспорт магния из среды внутрь клеток против градиента концентрации, а также блокирование транспорта кальция и связывание его белками. В пользу последнего свидетельствует то, что Ca^{2+} способствует закрытию ионных каналов мембран, а Mg^{2+} активирует их открытие [13]. Поэтому увеличение отношения содержания ионов магния и кальция от 1,0 в контроле до 2,5 у хлореллы, 3,0—3,5 у элодеи и 3,0—5,5 у ряски может быть следствием возрастания проницаемости мембран для ионов и их поступления (в том числе и тяжёлых металлов) в клетку, кроме ионов кальция, сайты связывания которых мембранными молекулами, вероятно, насыщены, а его транспорт прекращается из-за угнетения мембранных АТФ-аз.

Подтверждением функционирования эффективной системы ионного обмена в клетках водных растений при интоксикации является поддержание постоянного значения рН внутри клетки во всех вариантах опыта.

Еще одним подтверждением эффективности регулирования мембранного транспорта является содержание ионов натрия и калия. Известно, что они слабее связываются мембранными компонентами, но легко проникают в липидные фазы и оказывают влияние на мембрану подобно ионам кальция [18]. В нашем эксперименте обнаружено увеличение содержания в клетках ионов натрия и незначительное уменьшение — ионов калия.

Полученные данные согласуются с сообщениями о том, что ионы калия, как и кальция, эффективно накапливаются фосфолипидами мембран, содержащими фосфосахара, а также мембранными гликопротеидами, что может быть одной из причин постоянства содержания этих ионов в клетках водных растений [13].

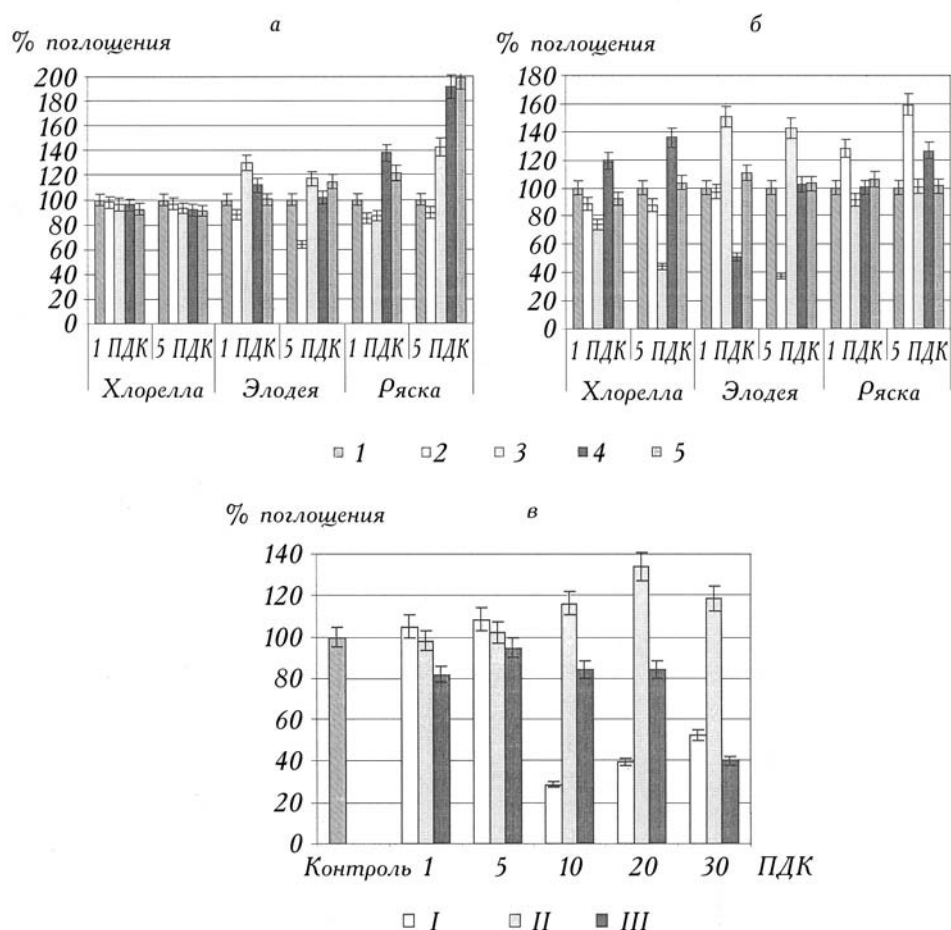
Накопление K^+ , который поступает в клетку через калиевые каналы по электрическому градиенту, создаваемому работой H^+ -насоса против концентрационного градиента, образует калиевый неравновесный потенциал [7]. Неравновесность концентрации калия внутри и снаружи клетки сохраняется и поддерживает на стационарном уровне мембранный потенциал, являющийся важнейшей составляющей гомеостаза. При снижении мембранного потенциала на плазмалемме (менее 100—200 мВ) он восстанавливается в результате открытия калиевых каналов и выхода K^+ , что происходило в нашем эксперименте.

Увеличение содержания ионов натрия отмечено у всех исследованных водных растений, как правило на 3-и—7-е сутки при воздействии цинка, после 7 сут воздействия свинца и ДП в основном при концентрации 5 ПДК, что согласуется с концентрационно-временными максимумами проявления других исследованных нами защитно-адаптивных эффектов [1, 2]. В связи с этим увеличение концентрации ионов натрия можно объяснить накоплением в клетках жидкости (набухание) и образованием вторичных концентрических мембран [1]. Кроме того, избыток воды в цитоплазме обуславливает уменьшение выхода из клеток ионов натрия и нарушает его активный транспорт, о чём свидетельствует снижение активности Na^+ , K^+ -АТФ-азы [6].

Таким образом, ионные процессы — накопление в клетках Na^+ , Mg^{2+} и потеря части K^+ и Ca^{2+} — вероятно, тесно связаны со структурными перестройками мембран и, прежде всего, с образованием вторичных концентрических мембран. Следует заметить, что эти изменения незначительны по сравнению с существующими между цитоплазмой и внеклеточной средой ионными градиентами, что дает основание считать образование внутри- и внеклеточного электролитов при воздействии цинка, свинца и дизельного топлива в исследованных концентрационно-временных пределах скорее не нарушениями, а адаптивно-регуляторными процессами. Роль ионов Mg^{2+} и K^+ может заключаться в стабилизации новообразованных вторичных концентрических мембран путём формирования внутри- и межмолекулярных связей преобладающих в этих мембранах фосфолипидов. Подтверждением этого вывода является функциональная устойчивость мембран, о которой судили по их проницаемости (рис. 4).

Ионы цинка практически не изменяли проницаемость мембран у хлореллы. Ионы свинца на 1-е—3-и сутки снижали проницаемость, на 7-е — увеличивали, а к 14-м она была близка к контролю. Обнаруженная закономерность согласуется с динамикой адаптации мембран к токсиканту, показанной нами ранее на структурном уровне: сначала мембраны пытаются изолировать клетку от токсичных ионов, затем они разрушаются токсикантом, проникновение которого в клетку увеличивается с последующим нарушением ионного гомеостаза, а затем, вследствие структурно-функциональной перестройки всего мембранного комплекса за счет образования вторичной концентрической мембраны, происходит восстановление мембранных функций. Та же закономерность характерна и для элодеи. У ряски повреждающий эффект исследованных тяжёлых металлов выражен сильнее, однако даже при воздействии свинца её клетки способны восстанавливать функции мембран к 14-м суткам. ДП увеличивает проницаемость мембран у хлореллы при концентрации до 5 ПДК, у элодеи — до 20 ПДК, затем она снижается, так же как и у ряски уже при 1—5 ПДК токсиканта, что свидетельствует о более глубоком повреждении мембран дизтопливом, способным растворять их липидные компоненты и образовывать в них разрывы [1, 17].

К основным мембранотропным соединениям, увеличивающим контроль проницаемости мембран, стабилизирующим и предотвращающим их распад, относятся ионы кальция, гомеостатический уровень которых, как показали результаты этого исследования, клетки водных растений эффективно



4. Проницаемость мембран клеток водорослей при действии ионов цинка (а), свинца (б) и дизельного топлива (в). 1, 2, 3, 4 и 5 — соответственно контроль, 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки.

поддерживают. Отметим, что проницаемость мембран в большей степени снижалась при дополнительном синтезе липидов [5, 15]. Она зависит также от отношения H^+/Ca^{2+} . Повышение концентрации H^+ усиливало, а добавление в раствор Ca^{2+} уменьшало проницаемость мембран [19]. Некоторые исследователи связывают повышение проницаемости со снижением количества SH-групп и увеличением дисульфидных связей, образованием дефектных областей в липидах, которые являются результатом накопления свободных жирных кислот и продуктов ПОЛ, а также возрастанием активности эндогенных фосфолипаз [19]. Таким образом, существует связь между содержанием липидов, концентрацией ионов кальция и ионной проницаемостью. Полученные данные позволяют предположить, что сорбция двухвалентных металлов приводит к увеличению стабильности липидного комплекса в мембранах, которую можно рассматривать как защитно-адаптивный механизм водных растений в ответ на воздействие ионов цинка и свинца.

При воздействии ДТ происходит растворение липидных компонентов мембран.

Заключение

Полученные данные позволяют заключить, что функциональные изменения мембран клеток водных растений при воздействии ионов тяжёлых металлов и дизтоплива сопряжены с их структурными перестройками [1, 6]. При первичном повреждении мембран низкой концентрацией токсикантов в течение кратковременного (до 3—7 сут) воздействия, наряду с утолщением и разрывами мембран [1], происходит угнетение ионного обмена клеток с внешней средой и снижение активности мембранных АТФ-аз, но одновременно формируются и защитные механизмы — уплотнение белок-липидных мембранных комплексов с участием ионов кальция. Долговременная адаптация клеток водных растений к токсикантам сопровождается специфическим процессом образования вторичных концентрических мембран, в который вовлечены ионы магния, калия и кальция, а также фосфат — как регуляторы и стабилизаторы образующихся липидных структур, вследствие чего мембрана восстанавливает свои функции, прежде всего проницаемость, активность АТФ-азного комплекса, ионный гомеостаз, а также поддержание рН.

Последовательность процесса адаптации мембран к токсикантам на структурно-функциональном уровне включает мембранный механизм изолирования клетки от токсикантов на начальных стадиях воздействия, повреждение токсикантом мембран при увеличении концентрации и времени и возрастание его проникновения в клетку с последующим нарушением ионного гомеостаза, восстановление мембранных функций в результате структурно-функциональной перестройки всего мембранного комплекса за счет образования вторичной концентрической мембраны, изменения ее липидного состава в сторону накопления нейтральных и фосфолипидов, насыщенных жирных кислот, а также белков и стабилизации новообразованного комплекса ионами кальция, калия и фосфатами.

**

Наведено дані про функціональну реакцію мембран клітин водних рослин (хлорели, елодеї та ряски) на дію цинку, свинцю і дизельного палива. Досліджено зміни проникності мембран, йонного складу клітин (кальцій, магній, натрій, калій) і роль мембранных АТФ-аз та лужної фосфатази в адаптації водних рослин до токсикантів.

**

*The article deals with functional response of membranes of freshwater plants — *Chlorella vulgaris* Beijer., *Elodea canadensis* Michx., *Lemna minor* L. to the impact of ions of zinc, lead and diesel fuel. The changes of permeability of membranes, ionic composition of cells (calcium, magnesium, sodium and potassium) and role of membrane ATP-ase and alkaline phosphatase in adaptation of aquatic plants to toxicants was investigated.*

**

1. Грубинко В.В., Костюк К.В. Структурные изменения в клеточных мембранах водных растений при действии токсических веществ // Гидробиол. журн. — 2011. — Т. 47, № 6. — С. 43—58.

2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. — Минск: Беларусь, 2000. — Т. 1. — С. 395—404.
3. Колупаев Ю.Е. Кальций и стрессовые реакции растений // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2007. — Вип. 1 (10). — С. 24—41.
4. Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В. и др. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. — Киев: Наук. думка, 2003. — 277 с.
5. Костюк К.В., Богнар О.І., Грубинко В.В. Вплив іонів Zn^{2+} та Pb^{2+} на активність АТФ-аз у одноклітинної водорості *Desmodesmus communis* (= *Scenedesmus quadricauda*) Brev. // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2008. — Т. 36, № 2. — С. 143—148.
6. Костюк К.В., Грубинко В.В. Изменение состава клеточных мембран водных растений при действии токсических веществ // Гидробиол. журн. — 2012. — Т. 48, № 2. — С. 77—96.
7. Кравцов А.В., Алексенко И.Р. Механизмы регуляции векторных ферментов биомембран. — Киев: Наук. думка, 1990. — 176 с.
8. Курский М.Д., Кондратюк Т.П. 3:5-АМР-зависимое фосфорилирование белков мембран мышц и транспорт кальция (обзор) // Укр. биохим. журн. — 1980. — Т. 52, № 4. — С. 525—538.
9. Куценко С.А. Основы токсикологии. — СПб., 2002. — 720 с.
10. Кучеренко Н.Е., Васильев А.Н. Липиды. — Киев: Вища шк., 1985. — 248 с.
11. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
12. Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. — Л.: Медицина, 1972. — 184 с.
13. Мегвегов С.С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений. — 2005. — Т. 52, № 2. — С. 283—305.
14. Патологическая анатомия и физиология / Ультраструктурная патология клетки: <http://www.nedug.ru/library/doc.aspx?item=34099>.
15. Полевой В.В. Физиология растений. — М.: Высш. шк., 1989. — 464 с.
16. Синюк О.В., Грубинко В.В., Клоченко П.Д., Васильчук Т.А. Особенности энергетического, азотного и фосфорного обмена у синезеленых и зеленых водорослей при действии гуминовых кислот // Гидробиол. журн. — 2008. — Т. 44, № 4. — С. 78—87.
17. Степаньян О.В., Воскобойников Г.М. Влияние нефти и нефтепродуктов на морфофункциональные особенности морских макроводорослей // Биология моря. — 2006. — Т. 32, № 4. — С. 241—248.
18. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. — М.: Наука, 2002. — 294 с.
19. Чиркова Т.В. Клеточные мембраны и устойчивость растений к стрессовым воздействиям // Соросовский образоват. журн. — 1997. — № 9. — С. 12—17.
20. Шеховцова Т.Н., Мугинова С.В., Веселова И.А. Определение ионов металлов с использованием нативных и иммобилизованных ферментов // Рос. хим. журн. — 2004. — Т. 58, № 4. — С. 73—82.
21. Bodnar O., Grubinko V. Some aspects of accumulation of heavy metals by blue-green water-plants / Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution. —

- Materials of III Intern. Young Scientists conf. Odesa, May 15—18, 2007. — Одесса: Печатный дом, 2007. — С. 238.
22. *Dang Z., Lock R.A.C., Flik G.* Na⁺/K⁺-ATP-ase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper // J. Exp. Biol. — 2000. — Vol. 203, N 2. — P. 379—387.
23. *Epanand R.* Lipid polymorphism and protein-lipid interactions // Biochim. Biophys. Acta. — 1998. — Vol. 1376, N 3. — P. 353—368.
24. *Lowry O.H., Rosebroug N.I., Farr A.L., Randall R.I.* Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265—275.

Тернопольский национальный
педагогический университет

Поступила 02.07.13