



О.П. ОЛЬХОВИЧ, І.С. КРАВЧЕНКО, Н.Ю. ТАРАН, М.В. АЛЕКСІЄНКО

Навчально-науковий центр «Інститут біології»  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01601, Україна  
oolga2005@ukr.net

### **ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ДІЇ ІОНІВ ТА НАНОЧАСТИНОК МІДІ Й ЦИНКУ НА *PISTIA STRATIOTES* (ARACEAE) ЗА БІОХІМІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ**

*К л ю ч о в і с л о в а*: Pistia stratiotes, цинк, купрум, наночастинки, пігменти, амінокислоти, ацилкарнітини

#### **Вступ**

Купрум та цинк за фізіологічних концентрацій є важливими металами, необхідними для нормального росту і розвитку рослин, у тому числі водних макрофітів. Вміст цих металів у природних водах може значно перевищувати гранично допустимі концентрації (ГДК) [2]. Відомо, що за високих концентрацій ці метали можуть виявляти токсичний вплив на рослини, пригнічуючи їхній ріст і розвиток [13–16]. Новітні технології сьогодні передбачають використання купруму й цинку не тільки в іонній формі, а й у вигляді наночастинок. Відомо, що наночастинки металів спричинюють зміни на клітинному рівні, підвищуючи або знижуючи ефективність біохімічних реакцій, які є основою стійкості рослин до ушкоджувальних факторів [7]. Доведено високу токсичність наночастинок оксиду купруму та цинку [9]. Потрапляння іонів металів та їхніх наночастинок до природних водоем може зумовити негативні зміни в різних представників гідробіонтів, зокрема водних макрофітів. У зв'язку

з цим порівняльні дослідження впливу іонів  $\text{Cu}^{2+}$  та  $\text{Zn}^{2+}$  і колоїдних розчинів їхніх наночастинок на біохімічні показники водних рослин є актуальним напрямком сучасних досліджень.

Останнім часом для інтенсифікації процесу очищення стічних вод, особливо в регіонах з теплим кліматом, використовують рослини-інтродуценти, що здатні швидко рости, розмножуватися й інтенсивно поглинати з водного середовища небажані метали [6, 20]. Однією з таких рослин, придатних до очищення вод, забруднених металами, є *Pistia stratiotes* (пістія) [11]. Здатність колонізувати нові середовища та широке розповсюдження, пов'язане з високими темпами росту, дають підстави розглядати цю рослину як перспективну для фіторе mediaційних заходів. Незважаючи на інформацію про небажану інвазію цього чужинного виду до природних водоем України [8, 17], ймовірно, за рахунок його виходу за межі експериментальних очисних споруд у скидних каналах ТЕЦ та зі стічними водами заводів, *P. stratiotes* й досі активно використовують [3, 21]. Отже, метою нашої роботи було з'ясування впливу іонів  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  та колоїдних розчинів наночастинок цих металів на біохімічні по-

© О.П. ОЛЬХОВИЧ, І.С. КРАВЧЕНКО, Н.Ю. ТАРАН,  
М.В. АЛЕКСІЄНКО, 2014

казники: вміст пігментів, білка, склад амінокислот й ацилкарнітинів у *P. stratiotes*. Це необхідно для оцінки продуктивності як штучних фітоценозів очисних споруд, так і природних фітогрупвань, створених з участю цього виду за умов неконтрольованого техногенного забруднення металами та їхніми наночастинками.

### Об'єкт та методи досліджень

Об'єктом дослідження ми обрали водний макрофіт *Pistia stratiotes* L. (пістія тілорізоподібна, або водний латук), що належить до підродини пістієвих, родини ароїдних (Araceae). Це багаторічний прісноводний бур'ян, який поширився на всій Земній кулі і характеризується як рослина, що вільно плаває [25].

Культури особин *P. stratiotes* вирощували в акваріумах 40–60 л на відстояній водогінній воді за оптимальних умов: освітлення — 6000 лк, температура води — 18–22° С, рН — 5–8 в аквакомплексі ННЦ «Інститут біології».

Цинк та купрум використовували у вигляді водних розчинів солей сульфатів ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  та  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) за концентрацій 0,1; 1 та 10 рГДК (рГДКZn — 0,01 мг/л, рГДКСu — 0,001 мг/л) і колоїдних розчинів наночастинок цих металів, розроблених кафедрою технології конструкційних матеріалів і матеріалознавства НУБіП України. Наночастинки отримані диспергуванням гранул міді, цинку імпульсами електричного струму з амплітудою 100–2000 А у воді [1]. Максимальний розмір наночастинок не перевищував 100 нм. Концентрації наночастинок металів у маточних розчинах становили для Cu — 75 мг/л, для Zn — 89 мг/л. Маточні розчини наночастинок біогенних розводили водою у співвідношенні 1:100.

У модельному експерименті рослини витримували впродовж трьох діб у ємкостях об'ємом 0,3 л на відстояній водогінній воді з додаванням відповідних іонів металів або неіонних колоїдних розчинів наночастинок металів за контрольованих умов: освітлення — 5000 лк, температура — 19–27° С, 10-годинний світловий період.

Для визначення вмісту пігментів, амінокислотного складу та ацилкарнітинів використовували суху речовину *P. stratiotes*.

**Визначення вмісту пігментів.** Наважку повітряно-сухої маси рослин (0,1 г) гомогенізували з 0,5 г скляного порошку та 0,5 г  $Na_2(SO_4)_{безв}$ . Гомогенат переносили в скляну колонку з фільтром, додава-

ли 3 мл ацетону і відфільтровували. Для визначення вмісту пігментів 100 мкл ацетонового екстракту переносили в пробірку і додавали 3 мл ацетону. Екстракт пігментів аналізували на спектрофотометрі «Shimadzu UV-1800» за довжини хвиль 440,5, 644 та 662 нм.

Кількісний вміст пігментів (мг/мл) після спектрофотометрії розраховували за формулами:

$$C_a = 9,784 \cdot D_a - 0,990 \cdot D_b,$$

$$C_b = 21,426 \cdot D_b - 4,650 \cdot D_a,$$

$$C_{a+b} = 5,134 \cdot D_a + 20,436 \cdot D_b,$$

$$C_{кар} = 4,695 \cdot D_{кар} - 0,268 \cdot C_{a+b}.$$

Далі визначали вміст пігментів на грам сухої речовини:

$$A = C \cdot V / P \cdot 1000,$$

де А — вміст пігменту, мг/г; С — концентрація пігменту, мг/л; V — об'єм витяжки пігменту, мл; P — наважка рослинного матеріалу, мг.

### Визначення вмісту білка біуретовим методом.

Сухий матеріал, який залишився на фільтрі після відмивання ацетоном, переносили в пробірку та додавали 4 мл 2,5 % трихлороцтової кислоти. Після центрифугування протягом 5 хв за 5000 г супернатант видаляли, і все повторювали знову. Далі виконували аналогічну процедуру з використанням 5 мл дистильованої води. Відтак додавали 5 мл 0,05 М NaOH у пробірку, де був сухий матеріал, і центрифугували. Після центрифугування відбирали 3 мл з верхньої фракції та змішували з 0,5 мл біуретового реактиву [10]. Оптичну щільність за 550 нм вимірювали на спектрофотометрі «Shimadzu UV-1800».

### Визначення вмісту амінокислот й ацилкарнітинів за допомогою тандемної мас-спектрометрії.

Вміст амінокислот й ацилкарнітинів встановлювали методом тандемної мас-спектрометрії [19] на мас-спектрометрі AB Sciex 2000 з автосамплером Ultimate 3000 (Dionex). Для аналізу використовували диск діаметром 3 мм. У процесі підготовки зразків до кожної проби (20 мкл екстракту для визначення білка) додавали внутрішній стандарт (суміш мічених дейтерієм амінокислот й ацилкарнітинів з відомими концентраціями) — 200 мкл на зразок. Після інкубації з внутрішнім стандартом зразки висушували та проводили дериватизацію за допомогою 3М бутанол/HCl. Відтак зразки розчиняли в реконституційному буфері та завантажували в автосамплер Ultimate 3000. Вимірювання здійснювали методом тандемної мас-спектрометрії. Якісний склад суміші амінокислот

й ацилкарнітинів визначали, порівнюючи хроматограми стандартної та дослідної сумішей амінокислот й ацилкарнітинів [23].

Кількість біологічних повторів та аналітичних повторностей у досліді — не менше трьох. Результати досліджень обробляли з використанням програми Microsoft Office Excel, вони вважалися достовірними (за t-критерієм Стьюдента) за рівня значущості  $p \leq 0,05$ .

## Результати досліджень та їх обговорення

Важливе значення для життєдіяльності рослин має пігментний склад. Якісний склад і вміст фотосинтетичних пігментів є показником продуктивності та життєздатності рослин. Саме різні властивості хлорофілів та каротиноїдів обумовлюють багатогранність відповідних захисних реакцій рослин за різних впливів.

В умовах дії іонів купруму за всіх досліджуваних концентрацій у *P. stratiotes* спостерігалось зменшення вмісту хлорофілу *a* і збільшення — хлорофілу *b* (рис. 1). При цьому загальна сума хлорофілів змінювалась несуттєво, зростання на 25 % зафіксоване лише за концентрації 0,1 ГДК, у разі підвищення концентрації металу загальний вміст хлорофілів стосовно контролю не змінювався. Тобто можна констатувати, що синтез хлорофілу *de novo* не відбувався. Вміст каротиноїдів у *P. stratiotes* за дії купруму в іонній формі, щодо контролю, зменшувався, відповідно до збільшення концентрації металу. Таким чином, система захисту рослини, пов'язана з пулом каротиноїдів, у даному разі не спрацьовувала. Дія купруму у формі наночастинок призводила до зменшення вмісту хлорофілу *a*,

збільшення вмісту хлорофілу *b* і зниження концентрації каротиноїдів стосовно контролю, але всі ці зміни були незначними, оскільки не перевищували норми реакції рослинного організму на зовнішній вплив.

На відміну від купруму, іони цинку зумовлювали зростання вмісту хлорофілу *a* (рис. 1), особливо за концентрації 0,1 ГДК (більш як удвічі). Вміст хлорофілу *b* також збільшувався, але менше, ніж у випадку іонів купруму. Загальна сума хлорофілів за концентрації 0,1 ГДК зростала майже вдвічі, а вміст каротиноїдів — від двох (1 ГДК) до трьох (0,1 ГДК) разів. Можна стверджувати, що відбувався додатковий синтез хлорофілів і каротиноїдів, а не перерозподіл раніше синтезованих пігментів, що свідчить про запуск репараційних механізмів захисту рослини, спрямованих на підтримання гомеостазу за умов ушкодження цинком.

Наночастинок цинку сприяли збільшенню вмісту хлорофілів *a* і *b*, їхньої загальної суми та концентрації каротиноїдів. Можна припустити, що вплив наночастинок цинку на *P. stratiotes* був позитивним, оскільки стимуляція процесів синтезу пігментів, імовірно, призведе до підвищення продуктивності рослини за даних умов. Для з'ясування цього було проведено інше дослідження.

За стресових умов будь-якої природи важливого значення для життєдіяльності рослин набуває білковий обмін. Кількість білка є показником продуктивності та життєздатності рослин. Саме завдяки білковим сполукам, насамперед ферментним комплексам, які швидко реагують на зміну умов середовища, забезпечується стійкість рослин. Ми припускаємо, що вміст білка у *P. stratiotes* за дії різних форм металів суттєво відрізнятиметься.

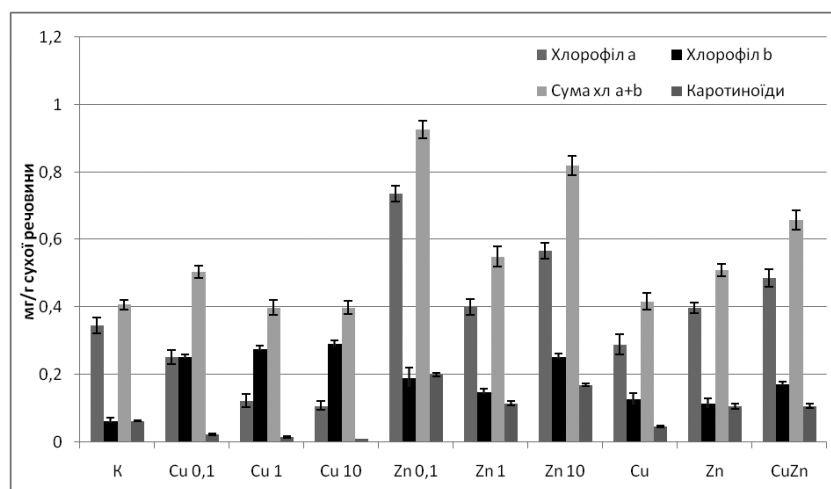
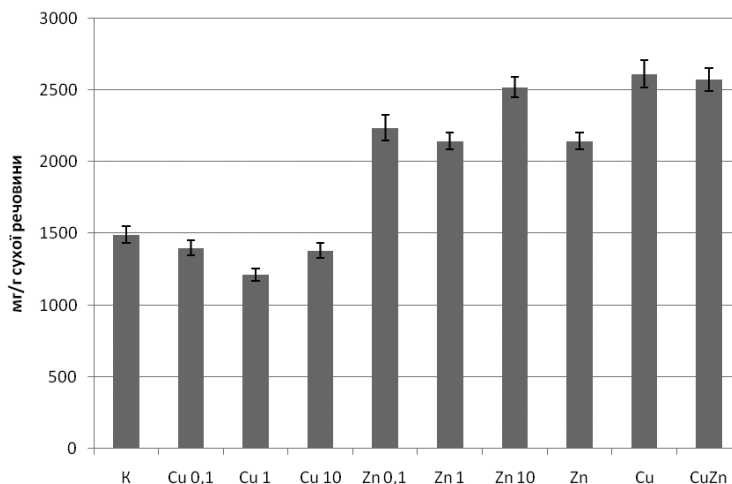


Рис.1. Вміст пігментів у *P. stratiotes* за дії купруму та цинку (К — контроль; Cu0,1 — 0,1 ГДК Cu<sup>2+</sup>; Cu1 — 1 ГДК Cu<sup>2+</sup>; Cu10 — 10 ГДК Cu<sup>2+</sup>; Zn0,1 — 0,1 ГДК Zn<sup>2+</sup>; Zn1 — 1 ГДК Zn<sup>2+</sup>; Zn10 — 10 ГДК Zn<sup>2+</sup>; Cu — наночастинок Cu; Zn — наночастинок Zn; CuZn — бінарна композиція наночастинок CuZn)

Fig. 1. Pigment content in *P. stratiotes* plants under the action of copper and zinc (K — control; Cu0,1 — 0,1 MAC Cu<sup>2+</sup>; Cu1 — 1 MAC Cu<sup>2+</sup>; Cu10 — 10 MAC Cu<sup>2+</sup>; Zn0,1 — 0,1 MAC Zn<sup>2+</sup>; Zn1 — 1 MAC Zn<sup>2+</sup>; Zn10 — 10 MAC Zn<sup>2+</sup>; Cu — nanoparticles Cu; Zn — nanoparticles Zn; CuZn — binary nanoparticle composition CuZn)

Рис. 2. Вміст білка у *P. stratiotes* за дії купруму та цинку (К – контроль; Cu0,1 – 0,1 ГДК Cu<sup>2+</sup>; Cu1 – 1 ГДК Cu<sup>2+</sup>; Cu10 – 10 ГДК Cu<sup>2+</sup>; Zn0,1 – 0,1 ГДК Zn<sup>2+</sup>; Zn1 – 1 ГДК Zn<sup>2+</sup>; Zn10 – 10 ГДК Zn<sup>2+</sup>; Cu – наночастинки Cu; Zn – наночастинки Zn; CuZn – бінарна композиція наночастинок CuZn)

Fig. 2. Protein content in *P. stratiotes* plants under the action of copper and zinc (K – control; Cu0,1 – 0,1 MAC Cu<sup>2+</sup>; Cu1 – 1 MAC Cu<sup>2+</sup>; Cu10 – 10 MAC Cu<sup>2+</sup>; Zn0,1 – 0,1 MAC Zn<sup>2+</sup>; Zn1 – 1 MAC Zn<sup>2+</sup>; Zn10 – 10 MAC Zn<sup>2+</sup>; Cu – nanoparticles Cu; Zn – nanoparticles Zn; CuZn – binary nanoparticle composition CuZn)



Отримані результати показали, що під впливом купруму в іонній формі за всіх досліджуваних концентрацій спостерігалось зменшення загального вмісту білка, а цинк, навпаки, — сприяв його збільшенню (рис. 2). У разі дії наночастинок (купруму, цинку та їх бінарної композиції) відзначено зростання концентрації білка. Вплив наночастинок цинку на вміст білка відповідав дії іонної форми металу на рівні концентрації 1 ГДК, а вплив наночастинок купруму був удвічі сильнішим, ніж за концентрації 1 ГДК купруму в іонній формі.

Нами також встановлено різницю у кількості та співвідношенні окремих амінокислот, що входять до складу білка. У *P. stratiotes* ми ідентифікували 17 амінокислот і визначили їхній кількісний вміст за умов дії металів купруму та цинку в іонній формі та у формі наночастинок. Результати представлено на рисунках 3–5.

Порівняльна оцінка впливу металів в іонній формі та у вигляді наночастинок показала, що загальний вміст досліджуваних амінокислот *P. stratiotes* за максимально високої концентрації купруму (10 ГДК) не змінювався, за максимально високої концентрації цинку (10 ГДК) — знизився з 120,1 до 100,0 мкмоль/г, за дії наночастинок купруму — до 88,2 мкмоль/г, а наночастинок цинку — до 101,5 мкмоль/г. Таким чином, вплив цинку як в іонній формі, так і у вигляді наночастинок був однаковим, а наночастинки купруму діяли сильніше (зниження вмісту на 27 %), ніж цей метал в іонній формі.

Купрум в іонній формі сприяв збільшенню вмісту амінокислот 5Oxo-Pro, Ala, Asp, Glu, Gly,

Orn, Tyr, Val та зменшенню, за всіх досліджуваних концентрацій, — Arg, Cit, His, Leu, Phe, Ser. Цинк в іонній формі зумовлював підвищення вмісту лише трьох амінокислот — Ala, Asp, Gly, в решті 14-ти амінокислот за всіх досліджуваних концентрацій відзначено зменшення їхнього вмісту. Зниження вмісту амінокислоти His у *P. stratiotes* в 1,5 раза високими (1 та 10 ГДК) концентраціями цинку свідчить про низьку здатність до накопичення цього металу рослиною, оскільки відомо, що гістидин є амінокислотою, яка продукується рослинами-аккумуляторами Zn та інших металів [24]. Так, у коренях гіперакумулятора цинку *Thlaspi caerulescens* було ідентифіковано Zn-гістидиновий комплекс, а концентрація гістидину підвищувалася зі збільшенням концентрації металу в розчині [12]. Ймовірно, у *P. stratiotes* функціонує інший, аналогічний до Zn-гістидинового, комплекс з аспарагіновою кислотою [27]. Нашими дослідженнями підтверджено зростання Asp за концентрації 10 ГДК з 9 до 11 мкмоль/г.

В обох випадках — за дії іонів купруму та іонів цинку — спостерігалася подібна залежність: за концентрації 1 ГДК зміни у вмісті амінокислот Ala, Asp, Glu, Gly, Met, Orn, Pro були суттєвішими, ніж за концентрації 10 ГДК. Це може свідчити про задіяння захисних реакцій рослини на пошкодження вищими концентраціями металів. Купрум у концентрації 10 ГДК збільшує, щодо контролю, вміст амінокислот Ala, Glu, Gly і Orn, цинк — Asp і Gly. Підвищення концентрації амінокислот спрямоване на підтримання необхідного для життєдіяльності рослини гомеостазу і запуск адаптивних реакцій.

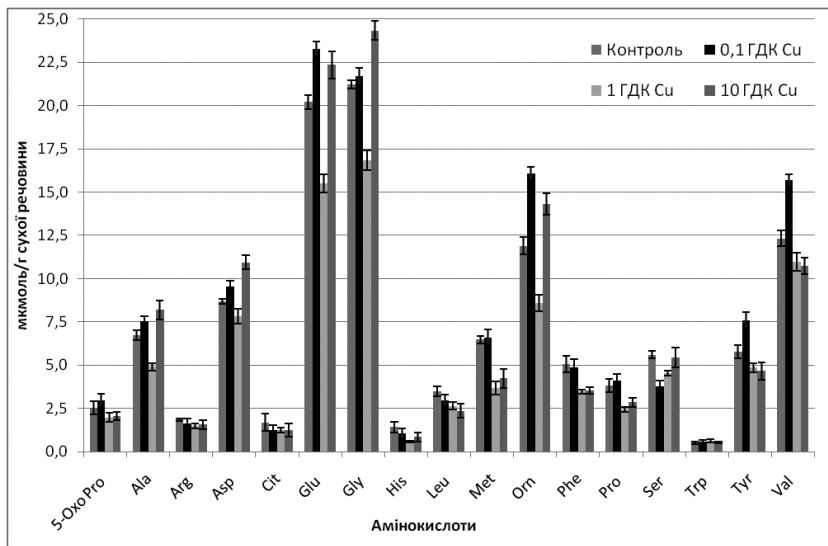


Рис. 3. Вміст амінокислот у *P. stratiotes* за дії іонів купруму (5Oxo-Pro — 5-оксопролін, Ala — аланін, Arg-аргінін, Asp — аспарагінова кислота, Cit — цитрулін, Glu — глутамінова кислота, Gly — гліцин, His — гістидин, Leu — лейцин, Met — метіонін, Orn — орнітин, Phe — феніланін, Pro — пролін, Ser — серин, Trp — триптофан, Tyr — тирозин, Val — валін)

Fig. 3. Amino acid content in *P. stratiotes* plants under the action of copper ions (5Oxo-Pro — 5-oxoproline, Ala — alanine, Arg-arginine, Asp — aspartic acid, Cit — citrulline, Glu — glutamic acid, Gly — glycine, His — histidine, Leu — leucine, Met — methionine, Orn — ornithine, Phe — phenylalanine, Pro — proline, Ser — serine, Trp — tryptophan, Tyr — tyrosine, Val — valine)

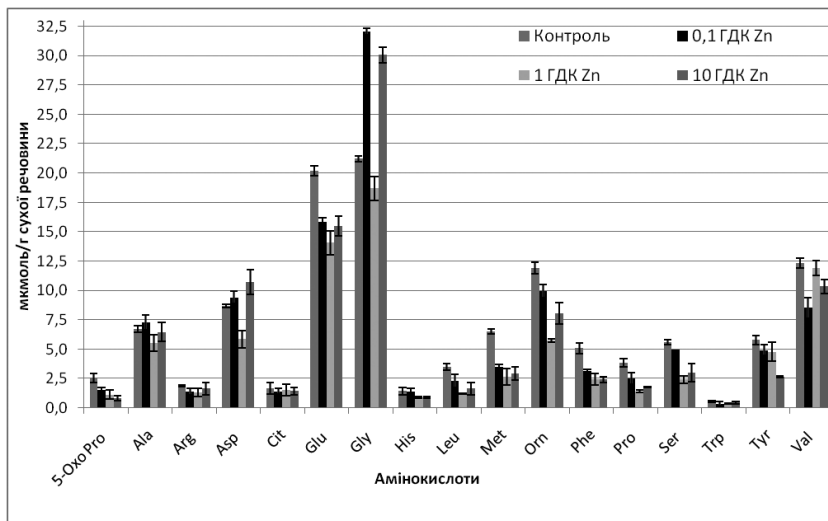


Рис. 4. Вміст амінокислот у *P. stratiotes* за дії іонів цинку

Fig. 4. Amino acid content in *P. stratiotes* plants under the action of zinc ions

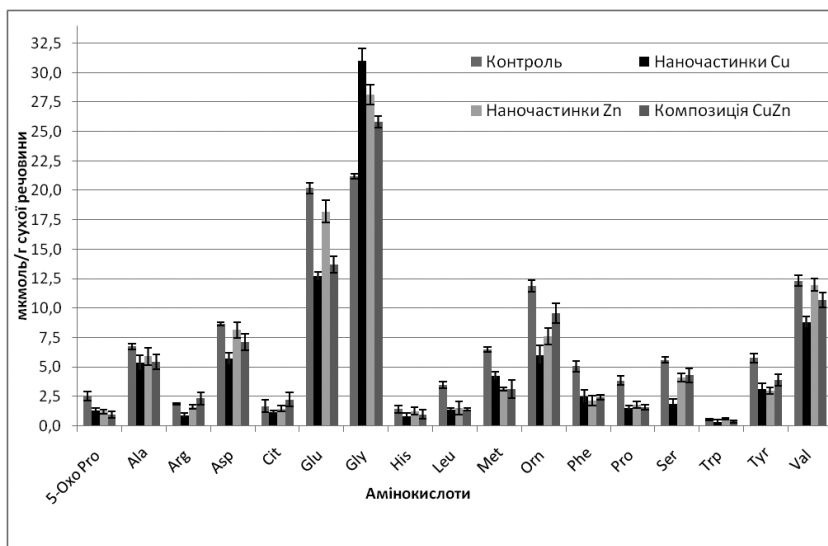


Рис. 5. Вміст амінокислот у *P. stratiotes* за дії наночастинок Cu, Zn та бінарної композиції CuZn

Fig. 5. Amino acid content in *P. stratiotes* plants under the action of nanoparticles of Cu, Zn and binary nanoparticle composition CuZn

Отримані нами результати підтверджують і дані про синтез різних метаболітів, зокрема окремих амінокислот, під час взаємодії рослин із ВМ [28]. Гліцин та глютамінова кислота беруть участь у синтезі глутатіону і фітохелатинів, які, в свою чергу, зв'язують метали, а аргінін залучений до синтезу поліамінів, що діють як сигнальні молекули й антиоксиданти [26].

Від впливу металів в іонній формі суттєво відрізнялася дія їхніх наночастинок. Наночастинки купруму зменшували у *P. stratiotes* вміст усіх досліджуваних амінокислот, окрім Gly. У деяких амінокислот (5Oxo-Pro, Arg, Leu, Orn, Phe, Pro, Ser, Tug) концентрація знижувалася більш як удвічі. Наночастинки цинку знижували вміст амінокислот менше, ніж наночастинки купруму. Більш як удвічі зменшувалась концентрація п'яти амінокислот — Leu, Met, Phe, Pro, Tug, лише три з них (Leu, Phe та Pro) реагували однаково і щодо наночастинок купруму, і щодо наночастинок цинку. Зменшення вмісту цих амінокислот, насамперед проліну, негативно позначається на можливості рослин формувати адаптивні реакції, оскільки пролін функціонує як акцептор радикалів, стабілізатор макромолекул [18] і хелат-сполука [26]. Є дані, що за стресових умов (водного дефіциту, низьких і високих температур, підвищеної солоності) чимало рослин накопичують саме пролін [4, 5, 22].

Сумісна дія наночастинок купруму та цинку у бінарній композиції спричинювала зниження вмісту амінокислот Asp, Glu, His, Val менше, ніж окремо використані наночастинки купруму, але більше, ніж наночастинки цинку, а вмісту амінокислот Orn, Ser, Tug — менше, ніж наночастинки купруму і цинку.

Істотне значення у процесах стійкості рослин мають швидкі зміни на рівні мембран мітохондрій, зокрема мембранних ліпідів, які забезпечують проникнення крізь мембрани певних речовин, насамперед жирних кислот. До сполук, що відповідають за транспортування всередину мітохондрій жирних кислот, належать і ацилкарнітини.

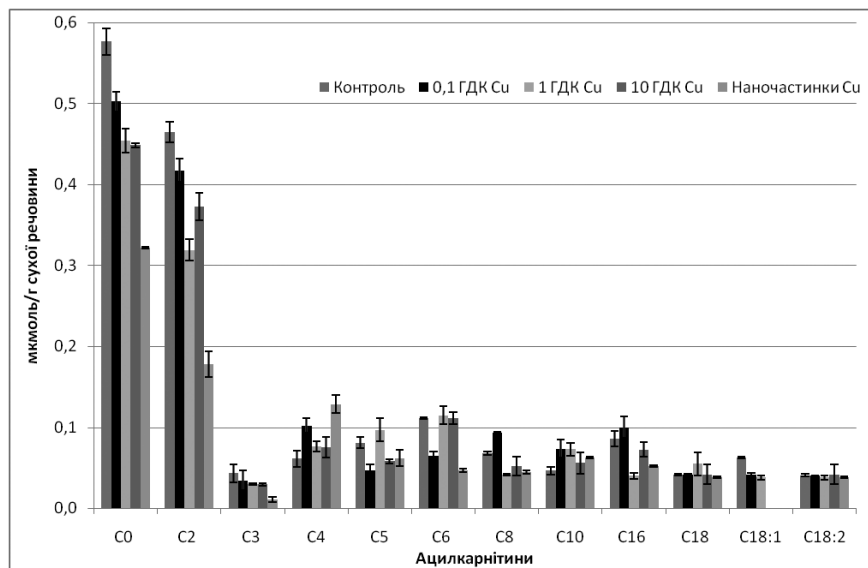
Ми ідентифікували та визначили вміст дванадцяти ацилкарнітинів у *P. stratiotes* у нормі та за дії різних форм металів купруму та цинку (рисунки 6, 7). Встановлено, що різні концентрації купруму в іонній формі спричинювали як збільшення, так і зменшення вмісту окремих ацилкарнітинів. За концентрації 0,1 ГДК купруму спостерігалося збільшення вмісту ацилкарнітинів C4, C8, C10, C16 та зниження всіх інших. Із зростанням концентрації купруму до 1 ГДК вміст ацилкарнітинів C0, C2, C3, C18:1, C18:2 зменшувався ще різкіше, ніж за концентрації 0,1 ГДК. За концентрації 10 ГДК вміст лише трьох ацилкарнітинів (C4, C6, C16) був вищим, а двох (C18, C18:2) — дорівнював контрольному варіантові.

Вплив наночастинок купруму сприяв підвищенню вмісту ацилкарнітинів C4 і C10, ще у двох (C18 та C18:2) він залишався сталим на рівні контролю, а в решти восьми суттєво знижувався. У разі дії наночастинок купруму зникав ацилкарнітин C18:1.

Можна стверджувати, що під впливом як іонів купруму, так і його наночастинок, порушується перенесення жирних кислот крізь мембрану всередину мітохондрій, а отже, знижуються інтенсивність дихання та енергетичний метаболізм клітини.

Рис. 6. Вміст ацилкарнітинів у *P. stratiotes* за дії купруму (C0 — вільний карнітин, C2 — ацетилкарнітин, C3 — пропіонілкарнітин, C4 — бутирилкарнітин, C5 — ізовалерилкарнітин, C6 — гексанойлкарнітин, C8 — октанойлкарнітин, C10 — деканойлкарнітин, C16 — пальмітоїлкарнітин, C18 — стеарилкарнітин, C18:1 — олеїлкарнітин, C18:2 — лінолеїлкарнітин)

Fig. 6. Acylcarnitine content in *P. stratiotes* plants under the action of copper (C0 — free carnitine, C2 — acetylcarnitine, C3 — propionyl carnitine, C4 — butyryl carnitine, C5 — izovaleryl carnitine, C6 — hexanoyl carnitine, C8 — octanoyl carnitine, C10 — decanoyl carnitine, C16 — palmitoyl carnitine, C18 — stearyl carnitine, C18:1 —oleyl carnitine, C18:2 — linoleyl carnitine)



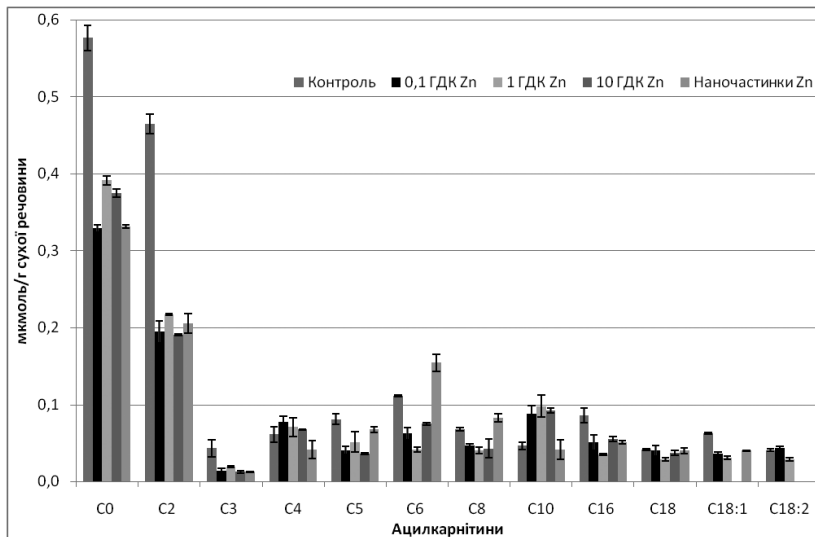


Рис. 7. Вміст ацилкарнітинів у *P. stratiotes* за дії цинку

Fig. 7. Acylcarnitine content in *P. stratiotes* plants under the action of zinc

За дії іонів цинку у *P. stratiotes* спостерігалося збільшення вмісту лише двох ацилкарнітинів (C4 та C10), у решти він знижувався щодо контролю за всіх досліджуваних концентрацій. Вміст ацилкарнітинів C2, C3 зменшувався більш як удвічі, C0, C5, C6, C16, C18:2 — у понад 1,5 раза, а C18:1 — до нуля.

Наночастинки цинку спричинювали зниження вмісту десяти ацилкарнітинів. Значне підвищення концентрації фіксували лише у C6 та C8.

Під впливом наночастинок цинку вміст окремих ацилкарнітинів змінювався по-різному, а загалом відбувався складний процес, спрямований на підтримання гомеостазу рослини за умов ушкодження металами.

## Висновки

Таким чином, за дії наночастинок купруму в *P. stratiotes* зафіксовано: збільшення вмісту хлорофілу *b* та зниження — хлорофілу *a* і каротиноїдів, підвищення концентрації білка, зменшення як загального вмісту амінокислот (на 25 %), так і всіх, окрім Gly, амінокислот, причому 5Oxo-Pro, Arg, Leu, Orn, Phe, Pro, Ser і Tyr — більш як удвічі. Також знижувався вміст 8-ми з 12-ти досліджуваних ацилкарнітинів, а саме: C0, C2, C3, C5, C6, C8, C16, C18:1. За дії наночастинок цинку зростала концентрація всіх фотосинтетичних пігментів і білка, знижувався загальний вміст амінокислот (на 15 %) та більш як удвічі — окремих із них (Leu, Met, Phe, Pro, Tyr), зменшувався вміст 10-ти ацилкарнітинів (C0, C2, C3, C4, C5, C10, C16, C18, C18:1, C18:2).

Зменшення концентрації амінокислот під впливом наночастинок металів негативно позна-

чається на можливості рослини формувати адаптивні реакції, пов'язані із синтезом стресових білків, а зниження вмісту ацилкарнітинів, які забезпечують транспортування жирних кислот, зумовлює зміни щодо активності і спрямованості процесів ліпідного метаболізму. Зменшення вмісту вільних жирних кислот у мітохондріях клітин *P. stratiotes*, у разі порушення їхнього транспортування ацилкарнітинами під впливом металів, звужує можливості їх використання як субстрату окиснення. Відмінності у дії металів в іонній формі та наночастинок не були чітко вираженими. Негативний вплив відзначено для обох форм металів, але реакції-відповіді різнилися залежно від концентрації та форми металу.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лопатько К.Г., Афтандіяниц Є.Г., Каленська С.М., Тонха О.Л. Спосіб отримання неіонного колоїдного розчину металів / Пат. № 38459 від 12.01.2009.
2. Мазурак О.Т., Лозовицька Т.М., Лисак Г.А. Біогеотехнології доочищення шахтних вод від важких металів // Наук. вісн. нац. лісотех. ун-ту України. — 2009. — **19**. — С. 53—58.
3. Чачина С.Б., Тимошенко О.Т., Шилова М.А. Сравнение эффективности очистки нефтезагрязненных сточных вод с использованием цеолита и активированного угля и высших водных растений: ряски малой и пистии // Междунар. журн. приклад. и фундамент. исслед. — 2013. — **10**. — С. 461—463.
4. Ashraf M., Harris P J.C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants // Plant Sci. — 2004. — **166**. — P. 3—16.
5. Aspinall D., Paleg L.G. Proline accumulation: physiological aspects / Ed. L.G. Paleg, D. Aspinall / The physiol. and biochem. of drought resistance in plants. — Australia: Acad. Press, 1981. — P. 205—240.
6. Bedum A. Concurrent removal and accumulation of Fe<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> from waste water using aquatic macrophytes // Der Pharma Chemica. — 2009. — **1**(1). — P. 219—224.

7. *Bhattacharya D., Gupta R. K.* Nanotechnology and potential of microorganisms // *Crit. Rev. Biotechnol.* — 2005. — **25**. — P. 199–204.
8. *Camargo A.F.M., Henry-Silva G.G., Pezzato M.M.* Crescimento e produção primária de macrófitas aquáticas em zonas litorâneas / Ed. R. Henry // *Ecótonos nas interfaces dos ecossistemas aquáticos.* — São Carlos: Fundibio/Rima, 2003. — P. 213–232.
9. *Crane M., Handy R. D.* An assessment of regulatory testing strategies and methods for characterizing the ecotoxicological hazards of nanomaterials // Report for Defra, London, UK. — 2007. — **19**. — P. 286–291.
10. *Gornall A.G., Bardawill C. J., David M. M.* Determination of serum proteins by means of the biuret reaction // *J. Biol. Chem.* — 1949. — **177**(2). — P. 751–766.
11. *Henry-Silva G.G.I., Camargo A. F.M.* Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura // *Planta Daninha.* — 2006. — **24**(1). — P. 21–28.
12. *Kerkeb L., Krämer U.* The role of free histidine in xylem loading of nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea* // *Plant Physiol.* — 2003. — **131**. — P. 716–724.
13. *Kumar A., Prasad M.N.V., Sytar O.* Lead toxicity, defense strategies and associated indicative biomarkers in *Talinum triangulare* grown hydroponically // *Chemosphere.* — 2012. — **89**. — P. 1056–1065.
14. *Malec P., Waloszek K.A., Prasad M.N.V., Strzalka K.* Zinc reversal of Cd-induced energy transfer changes in photosystem II of *Ceratophyllum demersum* L. as observed by whole-leaf 77K fluorescence // *Plant Stress.* — 2008. — **2**. — P. 121–126.
15. *Malec P., Maleva M.G., Prasad M.N.V., Strzalka K.* Identification and characterization of Cd-induced peptides in *Egeria densa* (water weed): putative role in Cd detoxification // *Aquat. Toxicol.* — 2009. — **95**. — P. 213–221.
16. *Maleva M.G., Nekrasova G.F., Malec P., Prasad M.N.V., Strzalka K.* Ecophysiological tolerance of *Elodea canadensis* to nickel exposure // *Chemosphere.* — 2009. — **77**. — P. 393–398.
17. *Martins D.* Caracterização química das plantas aquáticas coletadas no reservatório de Salto Grande (Americana-SP) // *Planta Daninha.* — 2003. — **21**. — P. 21–25.
18. *Matysik J., Alia B., Mohanty P.* Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants // *Current Sci.* — 2002. — **82**. — P. 525–532.
19. *Mikhaylova S.V., Baydakova G.V., Boukina A.M., Boukina T.M., Shechter O.V., Ilina E.S., Zakharova E.Y.* Combination of tandem mass spectrometry and lysosomal enzymes analysis-effective tool for selective screening for IEM in neurological clinic // *J. Inherit. Metab. Dis.* — 2004. — **27**(1). — P. 39.
20. *Miretzky P., Saralegui A., Fernandez Cirelli A.* Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina) // *Chemosphere.* — 2004. — **57**. — P. 997–1005.
21. *Muffarege M.M., Hadad H.R., Maine M.A.* Response of *Pistia stratiotes* to heavy metals (Cr, Ni, and Zn) and phosphorous // *Archives of Environmental Contamin. and Toxicology.* — 2010. — **58**(1). — P. 53–61.
22. *Naidu B. P., Paleg L. G., Aspinall D., Jennings A. C., Jones G. P.* Amino acid and glycine-betaine accumulation in cold stressed seedlings // *Phytochem.* — 1991. — **30**. — P. 407–409.
23. *Ovchynnikova Yu. A.* New methods of analysis of amino acids, peptides and proteins. — Moscow: Mir, 1974. — 154 p.
24. *Salt D.E., Prince R.C., Baker A.J.M., Raskin I., Pickering I.J.* Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy // *Environmen. Sci. and Technol.* — 1999. — **33**. — P. 713–717.
25. *Santosh Kumar Prajapati, Neelima Meravi, Shivangee Singh.* Phytoremediation of Chromium and Cobalt using *Pistia stratiotes*: A sustainable approach // *Proc. Intern. Acad. Ecol. and Environmental Sci.* — 2012. — **2**(2). — P. 136–138.
26. *Sharma S. S., Dietz K. J.* The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress // *J. Exper. Bot.* — 2006. — **57**. — P. 711–726.
27. *Smirnoff N., Stewart G.R.* Nitrogen assimilation and zinc toxicity to zinc-tolerant and non-tolerant clones of *Deschampsia cespitosa* (L) Beauv. // *New Phytol.* — 1987. — **107**. — P. 671–680.
28. *Vesely T., Neuberger M., Trakal L., Szakova J., Tlustoa P.* Water lettuce *Pistia stratiotes* L. response to lead toxicity // *Water, Air & Soil Pollut.* — 2012. — **223**(4). — P. 1847–1859.

Рекомендує до друку Надійшла 26.03.2014 р.  
О.К. Золотарьова

О.П. Ольхович, И.С. Кравченко, Н.Ю. Таран,  
Н.В. Алексиевко

Образовательно-научный центр «Институт биологии»  
Киевского национального университета имени Тараса  
Шевченко

#### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ И НАНОЧАСТИЦ МЕДИ И ЦИНКА НА *PISTIA STRATIOTES* (ARACEAE) ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Определено содержание пигментов, белка, идентифицированы и оценены количественно 17 аминокислот и 12 ацилкарнитинов у *P. stratiotes* под воздействием меди и цинка в ионной форме и коллоидных наночастиц, полученных диспергированием гранул металлов импульсами электрического тока в воде. Установлены достоверные изменения в содержании общего белка, отдельных аминокислот и ацилкарнитинов, свидетельствующие о нарушении белкового и липидного обменов. Выявлены различия воздействия ионов и наночастиц металлов.

К л ю ч е в ы е с л о в а : *Pistia stratiotes*, цинк, медь, наночастицы, пигменты, аминокислоты, ацилкарнитины.

О.П. Olkhovich, I.S. Kravchenko, N.Y. Taran, M.V. Alekseenko  
Educational and Scientific Centre «Institute of Biology», Taras  
Shevchenko National University of Kyiv

#### COMPARATIVE EVALUATION OF COPPER AND ZINC IONS AND NANOPARTICLES BY BIOCHEMICAL INDICES OF *PISTIA STRATIOTES* (ARACEAE)

The content of pigments and proteins in *P. stratiotes* is determined. Seventeen amino acids and twelve acylcarnitines are identified and quantified under the action of copper and zinc in the ionic form and in the form of colloidal nanoparticles obtained by metal granules dispersing induced by electric current pulses in water. The significant changes in the content of total protein, individual amino acids and acylcarnitines indicate disruptions in protein and lipid metabolism. The differences in action of metal ions and nanoparticles were also detected.

К e y w o r d s : *Pistia stratiotes*, copper, zinc, nanoparticles, pigments, amino acids, acylcarnitines.