



Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
 Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
 Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol. 2016. 24(1), 72–77.

doi:10.15421/011608

ISSN 2310-0842 print
 ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 579.222.2:579.266

Процеси ліпопероксидації у клітинах *Chlorobium limicola* IMB K-8 за впливу купрум (II) сульфату

Т.Б. Сегін, С.О. Гнатуш, М.Б. Горішний

Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

Досліджено вплив купрум (II) сульфату на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів у клітинах *Chlorobium limicola* IMB K-8. Від додавання солі металу в інкубаційне середовище вміст первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів змінювався залежно від тривалості культивування бактерій і концентрації солі металу в інкубаційному середовищі. Максимальний вміст гідропероксидів ліпідів спостерігали на шосту добу культивування мікроорганізмів. На сьому та восьму добу він значно знижувався. За внесення купрум (II) сульфату вміст гідропероксидів ліпідів зростав, порівняно з контрольним зразком за впливу усіх досліджуваних концентрацій. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) у клітинах *Ch. limicola* IMB K-8 найвищим був на шосту добу культивування, зі збільшенням тривалості культивування вміст цих продуктів у клітинах бактерій знижувався. За внесення купрум (II) сульфату у концентраціях 0,05–0,25 мМ вміст ДК зростав, а за впливу 0,5 мМ – знижувався. За збільшення тривалості культивування мікроорганізмів вміст ДК знижувався. Вміст ТБК-активних продуктів за впливу купрум (II) сульфату змінювався залежно від часу культивування та концентрації металу. Максимальний вміст ТБК-активних продуктів спостерігали на восьму добу культивування за концентрації металу 0,125 мМ.

Ключові слова: перекисне окиснення ліпідів; зелені сіркобактерії; дієнові кон'югати; гідропероксиди ліпідів; малоновий діальдегід

The processes of lipid peroxidation in the cells of *Chlorobium limicola* IMV K-8 under the influence of copper (II) sulphate

T.B. Segin, S.O. Hnatush, M.B. Gorishniy

Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

The effect of stressors, including heavy metal ions such as Cu^{2+} , promotes activation of free radical processes in the cells of microorganisms, which causes changes in their physiological and biochemical properties and the structure of bacterial membranes. The aim of this work was to assess the influence of copper (II) sulphate on intensity of lipid peroxidation (LPO) of *Chlorobium limicola* IMV K-8 by measuring the content of primary (conjugated dienes and lipid hydroperoxides) and secondary lipid peroxidation products (TBA-reactive products). Microorganisms were cultivated at a temperature of 28 °C in GSB cultivation medium with exposure to light of wavelength 700–800 nm and intensity 40 lux. A suspension of *C. limicola* IMV K-8 cells in the phase of exponential growth was treated for one hour with metal salt solution in concentrations 0.05–0.50 mM for investigation of the influence of copper (II) sulphate on its physiological and biochemical properties. The control samples did not contain any copper (II) sulphate. Biomass was determined by turbidity of diluted cell suspension by application of photoelectric colorimeter KFK-3. A mixture of n-heptane and isopropyl alcohol was added into cell-free extract for conjugated dienes determination. The samples were incubated at room temperature and centrifuged. Water was added into the supernatant and the samples were stirred. Ethanol was added to the heptanes phase and adsorption was measured at 233 nm. The content of lipid hydroperoxides was determined by a method based on protein precipitation by trichloroacetic acid followed by addition of ammonium thiocyanate. The concentration of TBA-reactive products in the cell-free extracts was determined by color reaction with malondialdehyde and thiobarbituric acid exposed to high temperature and acidity of the medium, which causes formation of trimetinic adduct with maximal absorption at 532 nm. It was shown that when CuSO_4 was added to the incubation medium the content of conjugated dienes and lipid hydroperoxides increased with the enhancement of salt concentration. However, its value decreased by the seventh and eighth days of cultivation. The content of TBA-reactive products under the influence of copper (II) sulphate varied depending on the duration of cultivation and concentration of the metal. Its highest quantity was observed on the eighth day of cultivation. Thus it was determined that under the

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна
Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevsky Str., 4, Lviv, 79005, Ukraine
 Tel.: +38-067-811-86-44. E-mail: gnatuk88@ukr.net

influence of CuSO_4 the content of conjugated dienes, lipid hydroperoxides and TBA-reactive products increases. This indicates the increased activity of lipid peroxidation processes and the free radical chain reaction damage mechanism to lipids under these conditions.

Keywords: lipid peroxidation; green sulphur bacteria; conjugated dienes; lipid hydroperoxides; malondialdehyde

Вступ

Стрес, незалежно від його походження, ініціює процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що є основною причиною пошкодження клітинних мембран (Halliwell et al., 1989; Kolisnyk et al., 2009). За впливу стресових чинників, зокрема, солей важких металів, у клітинах мікро- та макроорганізмів активуються вільнорадикальні процеси, внаслідок чого змінюються фізіолого-біохімічні властивості та порушується структура мембран (Lushhak et al., 2006; Bobylov et al., 2014; Brygadyrenko and Ivanushyn, 2015; Segin and Hnatysh, 2015; Tsvetkova et al., 2016). Активні форми кисню, що утворюються у процесах ПОЛ, виявляють цитотоксичну дію, впливають на регуляцію процесу поділу клітин та ліпідні компоненти біомембран (Dubinina, 2006). Основні продукти ПОЛ поділяють на первинні та вторинні. Первинні продукти ПОЛ, до яких належать дієнові кон'югати (ДК), утворюються у результаті окиснення поліненасичених вищих жирних кислот на стадії утворення вільних радикалів. Поява ДК свідчить про утворення вільних радикалів, а отже, і про вільнорадикальний механізм окиснення поліненасичених жирних кислот, та водночас слугує сигналом до утворення гідропероксидів (Marnett, 1999; Gueraud et al., 2010; Maslovs'ka and Hnatysh, 2014; Segin and Hnatysh, 2015).

Вторинні продукти вільнорадикального окиснення ліпідів утворюються у результаті деструкції гідроперексидів поліненасичених жирних кислот, продукуючи значну кількість малонового діальдегіду (МДА) та кетонів (Baraboj, 1989; Golovchak et al., 2012; Maslovs'ka and Hnatysh, 2014). МДА – біфункціональний альдегід, здатний утворювати шиффові основи з аміногрупами білка, виступаючи як зшивальний агент. У результаті окиснення утворюються нерозчинні білок-ліпідні комплекси, що мають назву пігментів зношення або ліпофусцинів (Gueraud et al., 2010; Ryl's'kyj, 2010). Таким чином, вміст МДА – показник активності окиснювальних процесів, зумовлених кисневими радикалами.

Іони важких металів впливають на інтенсивність ПОЛ у *Desulfuromonas acetoxidans* (Papanikolaou and Pantopoulos, 2005; Maslovs'ka and Hnatysh, 2014), проте відсутні відомості про вплив іонів Cu^{2+} на ПОЛ у клітинах зелених сіркобактерій. З огляду на те, що іони купруму найтоксичніші для бактерій роду *Chlorobium* (Kushkevych and Hnatysh, 2010), визначено мету статті – з'ясувати вплив купрум (II) сульфату на інтенсивність процесів ПОЛ *Chlorobium limicola* ІМВ К-8 за вмістом первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів.

Матеріал і методи досліджень

Для досліджень використовували бактерії *Chlorobium limicola* ІМВ К-8, виділені та ідентифіковані на кафедрі мікробіології ЛНУ ім. Івана Франка. Штам задепонований і зберігається в Українській колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України.

Мікроорганізми вирощували за температури $+28\text{ }^\circ\text{C}$ у середовищі GSB такого складу (г/л): KH_2PO_4 – 0,3, NH_4Cl – 0,34, KCl – 0,34, $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,15, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5. Після автоклавування додавали (мл/л): 10% розчин NaHCO_3 – 15, 10% розчин натрій ацетату – 10, 10% розчин натрій пірувату – 10, 1 М розчин $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$ – 2,5, розчин вітаміну B_{12} (2 мг/мл) – 0,1, розчин мікроелементів – 1 (Gudz' et al., 2011). Культуру вирощували на світлі з довжиною хвилі 700–800 нм інтенсивністю 40 лк (Kushkevych and Hnatysh, 2010). Для дослідження впливу купрум (II) сульфату на фізіолого-біохімічні властивості бактерій *Ch. limicola* ІМВ К-8 суспензію клітин бактерій з експоненціальної фази росту обробляли упродовж однієї години розчином солі металу у концентраціях 0,05–0,5 мМ. У зразки, що слугували контролем, купрум (II) сульфат не вносили. Біомасу у розведеній суспензії клітин визначали турбідиметрично за допомогою фотоелектроколориметра КФК-3 (Gudz' et al., 2014).

Після шести, семи та восьми діб культивування, біомасу осаджували центрифугуванням за 3 000 г упродовж однієї години. Клітини відмивали 50 мМ трис- HCl буфером (рН 7,0), ресуспендували в охолодженному 50 мМ трис- HCl буфері (рН 7,5) із додаванням 10^{-5} М етилендіамінтетраоцтової кислоти та 10^{-5} М фенілметилсульфонілфториду та використовували для отримання безклітинних екстрактів, які одержували руйнуванням клітин на ультразвуковому гомогенізаторі УЗДН-2Т за 22 кГц 5 хв і температури $0\text{ }^\circ\text{C}$. Уламки клітин відділяли центрифугуванням за 8 000 г і температури $4\text{ }^\circ\text{C}$ упродовж 30 хв на центрифугу ЦР-2. Концентрацію білків у безклітинних екстрактах визначали методом Лоурі (Lowry et al., 1951).

Як маркери первинних продуктів ПОЛ визначали дієнові кон'югати та гідропероксиди ліпідів, вторинних продуктів – ТБК-активні продукти (ТБКАП). Для визначення вмісту дієнових кон'югатів до 0,2 мл безклітинного екстракту додавали 1,8 мл суміші н-гептану та ізопропанолу у співвідношенні 1 : 1. Струшували та інкубували за кімнатної температури упродовж 30 хв. Після чого центрифугували за 1 500 г 10 хв. Супернатант відбирали у пробірки, до яких попередньо вносили 0,1 мл води. Суміш енергійно струшували. До гептанової фази (0,5 мл) додавали 2 мл етанолу та вимірювали абсорбцію за $\lambda = 233$ нм проти контролю, що містив 0,5 мл н-гептану та 2 мл етанолу. Концентрацію дієнових кон'югатів у зразку визначали, застосовуючи коефіцієнт молярної екстинції $28\ 000\ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (Golovchak et al., 2012). Вміст гідропероксидів ліпідів визначали методом, що ґрунтується на осадженні протеїну трихлороцтовою кислотою з наступним внесенням у середовище амоній тіоціанату. Із цієї метою до 0,2 мл безклітинного екстракту додавали 2,8 мл етанолу та 0,05 мл 50% розчину трихлороцтової кислоти та струшували упродовж 5 хв. Центрифугували за 2 500 г 5 хв. Відбирали 1,5 мл супернатанту і до нього додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої HCl , 0,03 мл 1% розчину солі Мора в 3% розчині HCl , струшували та через 30 с додавали 2 мл 20% розчину амоній тіоціанату. Абсорбцію вимірювали за $\lambda = 480$ нм. Вміст

гідропероксидів ліпідів визначали за різницею між дослідним зразком і контролем, у який замість безклітинного екстракту додавали відповідну кількість бідистильованої води. Концентрацію гідропероксидів ліпідів виражали в умовних одиницях на 1 г білка (умов. од./г білка) (Oleksjuk and Janovych, 2010). Концентрацію ТБК-активних продуктів у безклітинних екстрактах визначали за допомогою кольорової реакції малонового діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) за умов високої температури та кислого рН середовища, що спричиняє утворення триметинового комплексу, котрий містить одну молекулу МДА та дві молекули ТБК (Oleksjuk and Janovych, 2010). Для визначення вмісту ТБКАП до 0,4 мл безклітинного екстракту додавали 3 мл 10 мМ К-На фосфатного буферу, приготовленого на 125 мМ КСІ (рН = 7,4) та 0,5 мл 1 мМ КМnO₄. Для індукції ПОЛ двічі з інтервалом у 10 хв додавали 125 мкл 10 мМ FeSO₄. Реакцію зупиняли за допомогою трихлороцтової кислоти та центрифугували за 1 500 g 10 хв. До 2 мл супернатанту додавали 0,5 мл 1 н НСІ, 1 мл 0,7 мМ ТБК та інкубували на водяній бані за температури +95...+100 °С протягом 20 хв. У контрольний зразок замість супернатанту додавали воду. Після швидкого охолодження додавали 3 мл

бутанолу, суміш інтенсивно перемішували та центрифугували у попередньому режимі. Вимірювали екстинцію у верхньому бутаноловому шарі ($\lambda = 532$ нм), застосовуючи коефіцієнт молярного поглинання 156 000 М⁻¹ см⁻¹ (Golovchak et al., 2012).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили із застосуванням загальноприйнятих методів статистики. Усі дані представлені як середнє (М) ± стандартна похибка (SE). Критерій Ст'юдента застосовували для аналізу різниці даних між групами. Різниця з величиною Р < 0,05 вважалася достовірною.

Результати та їх обговорення

Для дослідження впливу купрум (II) сульфату на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів зелених сіркобактерій *C. limicola* ІМВ К-8 підібрано концентрації металу, які інгібують ріст мікроорганізмів на 70%. Досліджено вплив купрум (II) сульфату в концентраціях 0,05–0,50 мМ на ріст *C. limicola* ІМВ К-8 упродовж восьми діб культивування (рис. 1).

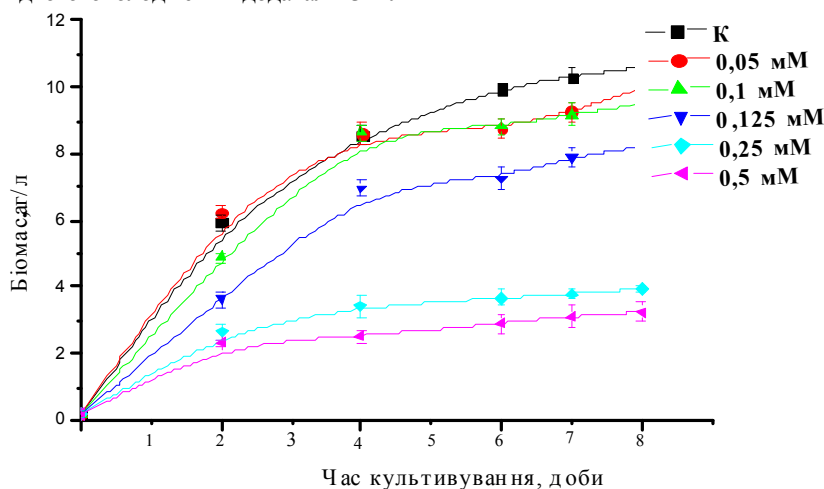


Рис. 1. Нагромадження біомаси бактеріями *C. limicola* ІМВ К-8 за впливу купрум (II) сульфату

Внесення купрум (II) сульфату в концентраціях 0,05–0,10 мМ не спричиняло інгібування росту культури. За додавання CuSO₄ в концентрації 0,125 мМ до середовища інкубації на сьому добу культивування нагромадження біомаси знижувалося на 27% порівняно з контролем. Зі збільшенням концентрації солі металу нагромадження біомаси бактерій знижувалося. Внесення 0,25 мМ купрум (II) сульфату спричиняло інгібування росту бактерій на 63%, а 0,50 мМ – на 70% на сьому добу культивування.

Наявність іонів купрум у середовищі культивування бактерій спричиняє нагромадження у клітинах токсичних продуктів ліпопероксидації: гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів.

Вміст дієнових кон'югатів у клітинах бактерій *C. limicola* ІМВ К-8, інкубованих у середовищі без купрум (II) сульфату змінювався, залежно від часу культивування (рис. 2). Найвищий вміст ДК спостерігали на шосту добу культивування. Зі збільшенням тривалості вирощування бактерій вміст дієнових кон'югатів у безклітинних екстрактах знижувався. Внесення солі металу в інкубаційне середовище зумовлювало зростання вмісту дієно-

вих кон'югатів у безклітинних екстрактах фотосинтезувальних зелених бактерій, порівняно з контролем.

Максимальний вміст дієнових кон'югатів на шосту добу культивування спостерігали за внесення солі металу в концентраціях 0,125–0,25 мМ. За подальшого збільшення вмісту CuSO₄ до 0,5 мМ вміст досліджуваних сполук у безклітинних екстрактах знижувався. На сьому добу культивування вміст дієнових кон'югатів у клітинах *C. limicola* ІМВ К-8 за впливу 0,05–0,25 мМ купрум (II) сульфату залишався на рівні 0,42–0,50 моль/мг білка. Додавання 0,50 мМ солі металу зумовлювало зниження вмісту дієнових кон'югатів на сьому та восьму добу порівняно з умістом цих сполук у безклітинних екстрактах бактерій, вирощених за впливу 0,05–0,25 мМ солі металу. За внесення 0,10, 0,125 та 0,25 мМ купрум (II) сульфату в інкубаційне середовище на восьму добу культивування спостерігали зростання вмісту дієнових кон'югатів відповідно на 57, 50 та 25% порівняно з контролем.

Вміст гідропероксидів ліпідів у безклітинних екстрактах *C. limicola* ІМВ К-8, інкубованих у середовищі без купрум (II) сульфату, зменшувався зі збільшенням тривалості

культивування. Найвищий їх уміст спостерігали на шосту добу культивування. Внесення купрум (II) сульфату в інкубаційне середовище зумовлювало зростання вмісту гідропероксидів ліпідів порівняно з контролем (рис. 3). Вміст гідропероксидів ліпідів у безклітинних екстрактах

бактерій збільшувався зі зростанням концентрації солі металу. Внесення купрум (II) сульфату в інкубаційне середовище у концентрації 0,50 мМ на шосту добу вирощування бактерій спричинило зростання вмісту гідропероксидів ліпідів удвічі порівняно з контролем.

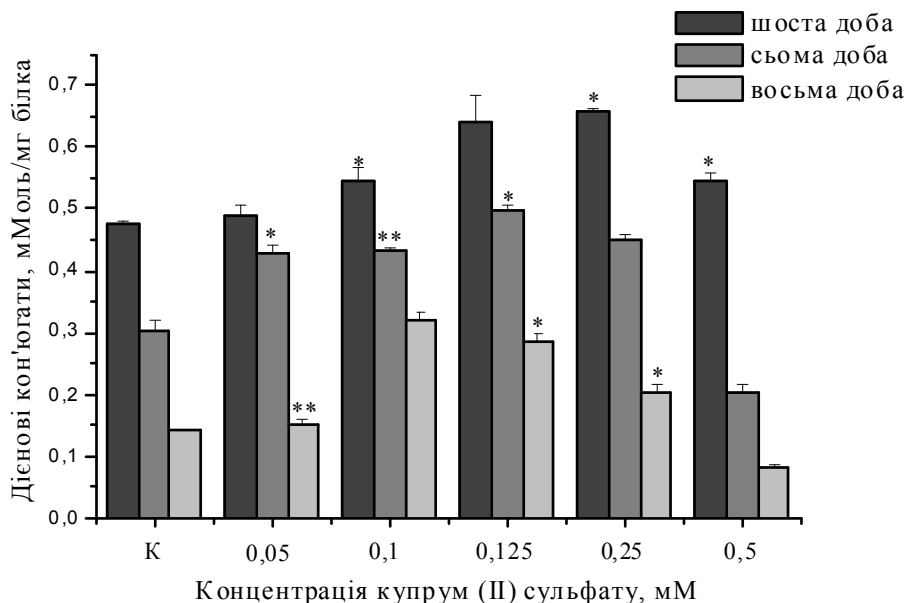


Рис. 2. Вміст дісенових кон'югатів у безклітинних екстрактах *C. limicola* IMB K-8 за впливу купрум (II) сульфату: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$ вірогідні зміни порівняно з контролем; $n = 3$

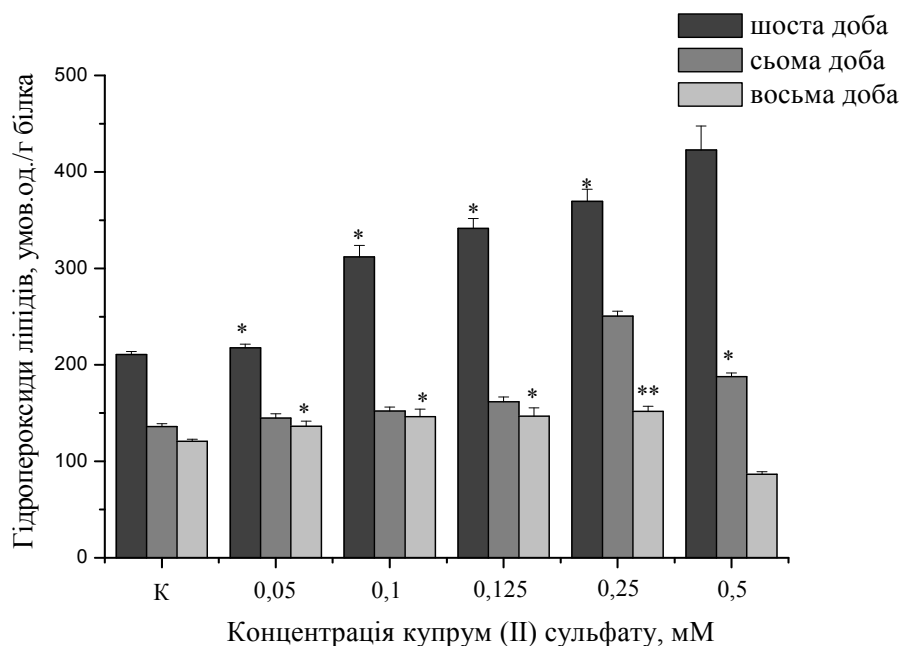


Рис. 3. Вміст гідропероксидів ліпідів у безклітинних екстрактах *C. limicola* IMB K-8 за впливу купрум (II) сульфату: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$ вірогідні зміни порівняно з контролем; $n = 3$

Вміст гідропероксидів ліпідів у клітинах бактерій на восьму добу культивування за впливу всіх досліджуваних концентрацій купрум (II) сульфату, окрім 0,50 мМ солі металу в інкубаційному середовищі, практично не змінювався. Отже, нагромадження у *C. limicola* IMB K-8 значних кількостей ДК і ГПЛ бактерій за впливу купрум (II) сульфату свідчить про вільнорадикальний механізм пошкодження ліпідів мембран. Вміст ТБК-активних продуктів у безклітинних екстрактах бактерій, інкубованих у

середовищі без купрум (II) сульфату, зменшувався зі збільшенням тривалості культивування (рис. 4). Внесення CuSO_4 в інкубаційне середовище зумовлювало зростання вмісту ТБКАП порівняно з контрольним зразком.

Найвищий вміст ТБКАП спостерігали на восьму добу вирощування за дії солі металу концентрацією 0,125 мМ (488 мкМоль/мг білка), що більше в 4,2 раза за контрольний показник. За вищих концентрацій CuSO_4 вміст ТБКАП знижувався до 222 мкМоль/мг білка за концен-

трації 0,50 мМ відповідно. Згідно з даними літератури (Компанес' and Ostapchenko, 2013), слід враховувати, що МДА, як і інші продукти ПОЛ, є високореактивним і може реагувати з амінами (наприклад, залишками лізину у складі білків) з утворенням основ Шиффа. Проте у біологічних зразках із високим вмістом білка вміст вільного

МДА може бути низьким, тому що аддукти основ Шиффа не реагують із ТБК. Однак динаміка накопичення ТБКАП у бактерій *C. limicola* ІМВ К-8 за впливу купрум (II) сульфату різна. Можливо, це наслідок дії протилежно спрямованих про- та антиоксидантних процесів у клітинах бактерій, які віддзеркалюють адаптивні можливості клітини.

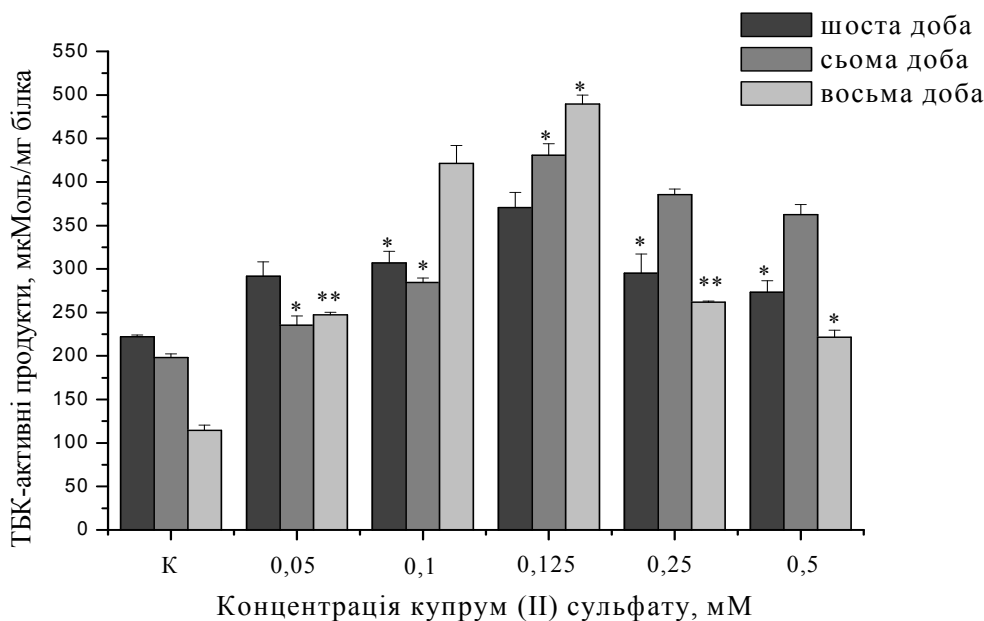


Рис. 4. Вміст ТБКАП у безклітинних екстрактах *C. limicola* ІМВ К-8 за впливу купрум сульфату:

* – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$ вірогідні зміни порівняно з контролем; $n = 3$

Активування процесів перекисного окиснення ліпідів, унаслідок чого накопичуються первинні та вторинні продукти ПОЛ, критичне для цілісності функціонування клітини та її компартментів, оскільки відбувається переважно в мембранах (Maslovs'ka and Hnatyshyn, 2014). Продукти ліпопероксидації мембранотоксичні. Вони деформують мембрани клітин і можуть пошкоджувати транспортні системи (Golovchak et al., 2012), у результаті вони накопичують продукти, здатні інактивувати мембранні ферменти, порушувати білок-ліпідні взаємодії у мембранах, утворювати молекулярні зшивки, змінювати в'язкість ліпідної фракції (Компанес' and Ostapchenko, 2013).

Висновки

У разі додавання купрум (II) сульфату в концентрації 0,05–0,50 мМ до інкубаційного середовища активується перекисне окиснення ліпідів у клітинах *C. limicola* ІМВ К-8. Підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів за впливу різних концентрацій купрум (II) сульфату свідчить про підвищення активності процесів ліпопероксидації та вільнорадикальний механізм пошкодження ліпідів.

Бібліографічні посилання

Baraboj, V.A., 1989. Rol' perekysnogo oksylenija v mehanyzme stressa [The role of peroxide oxidation in stress mehanyzme]. Fyziologycheskij Zhurnal 35(5), 83–97 (in Russian).

Bobyliov, Y.P., Brygadyrenko, V.V., Bulakhov, V.L., Gaichenko, V.A., Gasso, V.Y., Didukh, Y.P., Ivashov, A.V., Kucheriavyy, V.P., Maliovanyi, M.S., Mytsyk, L.P., Pakhomov, O.Y., Tsaryk, I.V., Shabanov, D.A., 2014. Ekologija [Ecology]. Folio, Kharkiv (in Ukrainian).

Brygadyrenko, V., Ivanyshyn, V., 2015. Changes in the body mass of *Megaphyllum kievense* (Diplopoda, Julidae) and the granulometric composition of leaf litter subject to different concentrations of copper. Journal of Forest Science 61(9), 369–376.

Dubinina, E.E., 2006. Produkty metabolizma kisloroda v funktsional'noj aktivnosti kletok. Zhizn' i smert', sozidanie i razrushenie [Reactive oxygen species at functional activity of cells. Life and death, creation and destruction]. Medicinskaja Pressa, Sankt-Peterburg (in Russian).

Golovchak, N.P., Tarnavs'ka, A.V., Kocjumbas, G.I., Sanagurs'kyj, D.I., 2012. Procesy perekysnogo oksylenija lipidiv u zhyvyh organizmah [The process of lipid peroxidation in living organisms]. LNU, Lviv (in Ukrainian).

Gudz', S.P., Gorishnyj, M.B., Hnatyshyn, S.O., 2011. Bakterial'nyj fotosyntezy [Bacterial photosynthesis]. LNU, Lviv (in Ukrainian).

Gudz', S.P., Hnatyshyn, S.O., Javors'ka, G.V., Bilins'ka, I.S., Borsukevych, B.M., 2014. Praktykum z mikrobiologii' [Practical microbiology]. LNU, Lviv (in Ukrainian).

Gueraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P.M., Huc, L., Jouanin, I., Siems, W., Uchida, K., 2010. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. Free Radic. Res. 44(10), 1098–1124.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1989. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford.

Kolisnyk, M.I., Kolisnyk, G.K., Nidzjulka, J., Vlizlo, V.V., 2009. Aktyvni formy kysnju ta i'h rol' u metabolizmi klityny [Active oxygen fotms and their role in the metabolism of cells.]. Biologija Tvaryn 11, 59–70 (in Ukrainian).

- Kompanec', I.V., Ostapchenko, L.I., 2013. Doslidzhennja membrannyh bilkiv ta lipidiv [Investigation of membrane proteins and lipids]. Kyi'v (in Ukrainian).
- Kushkevych, I.V., Hnatush, S.O., 2010. Vplyv solej vazhkyh metaliv na rist i shvydkist' poglynnannja klitynamy kysnju klitynamy zelenyh sirkobakterij *Chlorobium limicola* YA-2002 [Effect of heavy metal salts on growth and velocity of oxygen uptake by the cells of green sulfur bacteria *Chlorobium limicola* Ya-2002]. Biologichni Studii 4(2), 49–58 (in Ukrainian).
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, L., Randall, R., 1951. Protein measurement, with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265–275.
- Lushhak, V.I., Bagnjukova, T.V., Luzhna, L.I., 2006. Pokaznyky oksydatyvnoho stresu. 2. Peroksydy lipidiv [Indicators of oxidative stress. 2. Peroxide lipids]. Ukrainian Biochemical Journal 78(6), 113–120 (in Ukrainian).
- Marnett, L.J., 1999. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. Mutat. Res. 424(2), 83–95.
- Maslovs'ka, O.D., Hnatush, S.O., 2014. Intensyvniest' procesiv perekysnogo oksyennnja lipidiv i pokaznyky systemy antyoksydantnoho zahystu klityn *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384 [The intensity of lipid peroxidation and parameters of antioxidative defence system of *Desulfuromonas acetoxidans* IMV B-7384 under the influence of ferric (III) citrate]. Visn. Lviv Univ. Ser. Biol. 64, 270–278 (in Ukrainian).
- Oleksjuk, N.P., Janovych, V.G., 2010. Aktyvnist' pro- i antyoksydantnyh system u pechinci prisnovodnyh ryb u rizni pory roku [The activity of pro- and antioxidant systems of liver of freshwater fish at different seasons]. Ukrainian Biochemical Journal 82(3), 41–48 (in Ukrainian).
- Papanikolaou, G., Pantopoulos, K., 2005. Iron metabolism and toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 202(2), 199–211.
- Ryl's'kyj, O.F., 2010. Utvorennja malonovogo dial'degidu pid dijeju vazhkyh metaliv jak indykatora rujnuvannja pigment-syntezuval'nyh membrannyh centriv bakterij [Formation of malonic dialdehyde under heavy metals influence as an indicator of destruction of pigment-synthesizing membranous centres of bacteria]. Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Med. 1(1), 103–106 (in Ukrainian).
- Segin, T.B., Hnatush, S.O., 2015. Utvorennja pervynnyh produktiv perekysnogo oksyennnja lipidiv u klitynah *Chlorobium limicola* IMV K-8 za vplyvu kuprum sul'fatu [The formation of primary products of lipid peroxidation in the cells of *Chlorobium limicola* IMV K-8 under the influence of copper sulfate]. Molod' i Postup Biologii'. Materialy XI Mizhnar. Nauk. Konf., L'viv, 371–373 (in Ukrainian).
- Tsvetkova, N.M., Pakhomov, O.Y., Serdyuk, S.M., Yakyba, M.S., 2016. Biologichne riznomanittja Ukrainy. Dnipropetrovs'ka oblast'. Grunty. Metaly u gruntah [Biological diversity of Ukraine. The Dnipropetrovsk region. Soils. Metals in the soils]. Lira, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).

Надійшла до редколегії 20.12.2015