

*Катерина Василівна Костюк,*

кандидат біологічних наук, науковий співробітник,  
Університет Гогенхайма, Німеччина  
orcid.org/0000-0003-3112-4834, e-mail: kostyuk.katya@gmail.com

*Василь Васильович Грубінко,*

доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри загальної біології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка, Україна  
orcid.org/0000-0002-4057-9374, e-mail: v.grubinko@gmail.com

*Оксана Ігорівна Боднар,*

доктор біологічних наук, професор, професор кафедри загальної біології  
Тернопільського національного педагогічного університету  
імені Володимира Гнатюка, Україна  
orcid.org/0000-0002-8416-5464, e-mail: o.bodnar@gmail.com

*Галина Василівна Чвалюк,*

аспірант кафедри загальної біології  
Тернопільського національного педагогічного університету  
імені Володимира Гнатюка, Україна  
orcid.org/0000-0003-4146-0815, e-mail: 0986372888g@gmail.com

## **МЕХАНІЗМ УТВОРЕННЯ СИСТЕМИ ВТОРИННИХ КОНЦЕНТРИЧНИХ МЕМБРАН У ВИЩИХ ВОДНИХ РОСЛИН ПРИ ДІЇ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН НА ПРИКЛАДІ LÉMNA MINOR L.**

**Анотація.** Важко собі уявити, що така складна структура, як клітинна мембрана, може бути відновлена, однак вона відновлюється за рахунок регенерації часткових розривів або синтезу вторинної концентричної мембрани. Здатність багатьох організмів до регенерації часткових розривів їхньої клітинної мембрани добре вивчена [1; 2; 3]. Коли клітини пошкоджені, вони швидко відновлюють пошкодження в мембрані, з утворенням однієї або більше нерозчинних корків, що складаються з ліпідів та полісахаридів, щоб запобігти втраті вмісту цитоплазми. Згодом клітини відновлюють свій первісний обсяг та форму [4; 5]. Враховуючи великий розмір клітин, слід розуміти, що цих пробіїв може бути багато. Тут задіяні інші процеси, пов'язані з утворенням системи вторинних концентричних мембран [6].

Наші результати показують, що вторинна мембрана не є тимчасовою, і функції вона виконує такі, як і первинна клітинна мембрана, а її утворення триває всього кілька годин. У цьому дослідженні ми надаємо повний опис того, як утворюється вторинна концентрична мембрана, а також етапність цього процесу та значення при адаптації.

Повне пояснення того, як ці клітини відновлюють пошкоджену мембрану, у тому числі клітинну стінку, залишається ще визначити. Тому метою цієї статті було вивчення процесів утворення вторинної концентричної мембрани та клітинної стінки на прикладі вищих водних рослин *Lémna minor L.*

Регенерація клітинної оболонки може бути важливою моделлю вивчення таких процесів, як взаємодія різних клітинних органел, формування різних типів гібридних клітин і особливо, еволюції клітинних мембран.

В спонтанній регенерації клітинної оболонки можна виділити чотири основні стадії: 1) утворення протопласту; 2) формування псевдо-протопласту; 3) синтез клітинної стінки; 4) формування вторинної концентричної мембрани.

**Ключові слова:** *Lémma minor L.*, протопласт, псевдо-протопласт, вторинні концентричні мембрани, парасексуальна гібридизація, соматичний гібрид, регенерація.

## ВСТУП

Про механізми сприйняття клітинами рослин різних стресорів поки що відомо небагато. Є підстави вважати, що важливу роль у цьому сприйнятті відіграють клітинні мембрани, які виконують безліч функцій, порушення будь-якої з них може призвести до зміни життєдіяльності клітини загалом і навіть її загибелі [7]. Тому для опірності живих організмів до стресових факторів зовнішнього середовища надзвичайно важливим є збереження стійкості та цілісності мембрани, котра, як відомо, визначається станом її компонентів [8]. Оскільки мембрани першими піддаються впливу стресових факторів і є мішенями первинного впливу і першою лінією захисту від них, то, будучи динамічними структурами, вони повинні швидко (миттєво) реагувати на відхилення в умовах існування та відновлюватись [9].

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на рясі *Lémma minor L.*, яку вирощували в акваріумах з відстояною водопровідною водою при освітленні лампами денного світла (2500 лк) та температурі  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . В експериментах до культури рослин у кожному випадку окремо додавали водні розчини солей важких металів  $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  та  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  із розрахунку на іон:  $\text{Zn}^{2+}$  – 1,0 мг/дм<sup>3</sup> та 5,0 мг/дм<sup>3</sup>;  $\text{Pb}^{2+}$  – 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та 0,5 мг/дм<sup>3</sup>, що відповідає 1 та 5 ГДК<sub>рнб</sub>, а також дизельне паливо у кількості 0,05 мг/дм<sup>3</sup>; 0,25 мг/дм<sup>3</sup>, що становить 1, 5 ГДК<sub>рнб</sub> відповідно [10]. Період інкубації водних рослин з токсикантами становив 0,5, 1, 3, 6, 9 годин та 1, 3, 7 та 14 діб. Контролем були рослини, які росли в середовищі без токсикантів.

Клітинні мембрани виділяли за методикою Фіндлея і Еванса [11] з гомогенатів біомаси водних рослин, отриманих в механічному гомогенізаторі при 7000 об/хв 5 мМ тріс-НСІ буфері (рН=7,6), що містить 0,5 М сахарози, 0,005, ЕДТА, 0,01 М КСІ та 0,001 М  $\text{MgCl}_2$  (сира маса: об'єм буферу - 1:5), центрифугуванням при 5000 об/хв протягом 15 хв. Осад, що містив клітинні мембрани, ресуспендували у верхній фазі розчину, отриманого змішуванням двофазної системи розчинів 0,25 М сахарози і 30%-вого поліетиленгліколю в 0,2 М розчині фосфату натрію, попередньо витриманого 24 години при  $4^\circ\text{C}$ . Суспензію розділяли порівну в три полікарбонатні пробірки об'ємом 50 мл, у кожену додавали 10 мл нижньої фази суміші розчинів, змішували і центрифугували при 2000 г 15 хв в бакет-ротаторі. Мембранний матеріал збирали у просторі розділення фаз за допомогою шприца. Усі процедури здійснено при  $4^\circ\text{C}$ .

Мікроскопічне дослідження мембран здійснювали після їх фарбування барвником «хлор – цинк – йод» (водний розчин  $\text{ZnCl}_2$  та КJ) [12]. При цьому до краплі розчину виділених мембран на предметному склі додавали барвник, потім у надлишку кристалічний  $\text{J}_2$ , накривали покривним склом і мікроскопували при  $\times 900$  (мікроскоп МБІ-15).

## РЕЗУЛЬТАТИ

Життєдіяльність клітин, особливо у водних організмів, які постійно контактують із середовищем існування, в більшості випадків визначається складом, структурою та функціональним станом їхньої клітинної стінки, а також мембрани [13].

За дії різних стресорів насамперед руйнується клітинна стінка. Мікроскопічно це виглядає так, ніби клітина оголюється, втрачаючи цю структуру. У результаті утворюється протопласт – клітина без клітинної стінки, однак з мембраною. Доказом цього свідчить також зменшення кількості вуглеводів у мембрані за дії несприятливих факторів [14]. Слід зазначити, що клітина дуже легко втрачає клітинну стінку і навіть не намагається її швидко відновити. У зв'язку з чим ми гадаємо, що цей процес безпосередньо пов'язаний із можливістю зливатися ізольованим протопластам між собою (рис. 1).

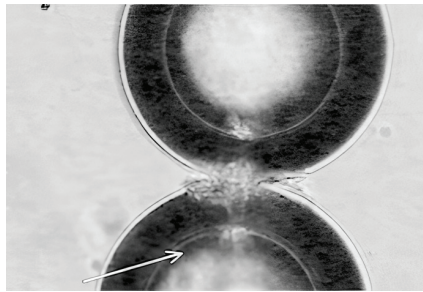


Рис. 1. Злиття ізольованих протопластів між собою

Зазначимо, що протопласти можуть з'єднуватися між собою тільки тоді, коли у протопластів ще не утворилася клітинна стінка.

Раніше ми стверджували не про злиття, а про утворення конгломератів як механізм захисту, однак до кінця не розуміючи, який саме [15]. Сьогодні ми з упевненістю можемо говорити про те, що злиття протопластів це своєрідний метод гібридизації, так звана парасексуальна, або соматична гібридизація. На відміну від звичайної, де зливаються статеві клітини (гамети), в якості батьківських, при парасексуальній гібридизації зливаються диплоїдні клітини рослин.

Отже, злиття протопластів призводить до утворення соматичного гібриду – продукту злиття і цитоплазми, і ядра обох протопластів (рис. 2).

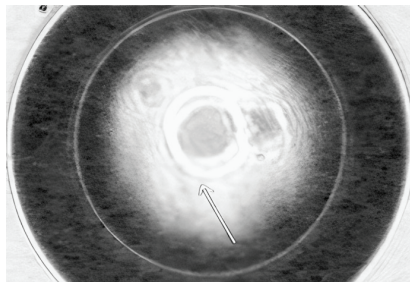


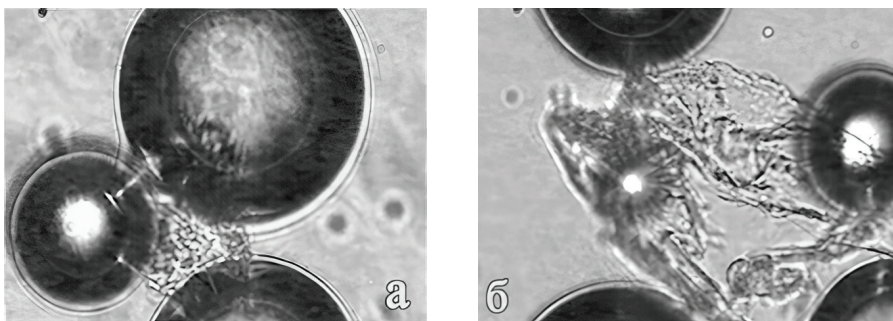
Рис. 2. Соматичний гібрид

Нагадаємо, що позаядерні генетичні детермінанти у більшості рослин успадковуються у статевому процесі строго одноядерно та від матері. При цьому цитоплазматичний геном кодує ряд найважливіших ознак – швидкість фотосинтезу, стійкість до патогенів, абіотичних факторів тощо.

Виходячи з цього вважаємо, що парасексуальна гібридизація сприяє спонтанному генеруванню сотні нових життєздатних клітин, які швидше адаптовуються до змінених умов існування. Тим більше, що є відомості про рекомбінацію ДНК мітохондрій та хлоропластів у таких гібридних клітинах, а також наявність косегрегації генів (ознаки, що контролюють позаядерний геном, сегрегують спільно), що свідчить про фізичне зчеплення генів [16].

Слід зазначити, що при злитті можуть утворюватися і так звані асиметричні гібриди – продукти злиття, що мають повний хромосомний набір одного з партнерів і частину хромосом іншого партнера. В цьому випадку внаслідок неправильних поділів клітини, обумовлених некоординованою поведінкою двох різнорідних наборів хромосом, у ряді поколінь втрачаються частково або повністю хромосоми одного з батьків. Асиметричні гібриди бувають стійкішими, плодючішими і життєздатнішими, ніж симетричні, що несуть повні набори генів батьківських клітин [16].

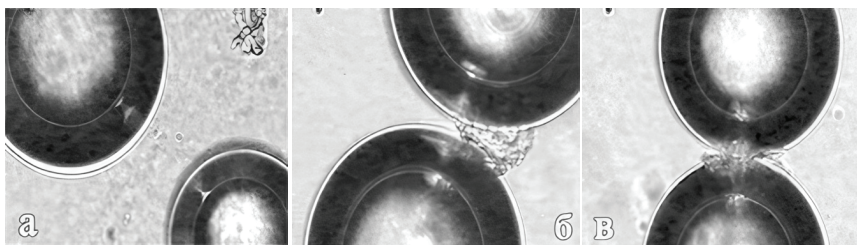
Гібриди можуть бути отримані шляхом злиття трьох та більше батьківських клітин. У своїх експериментах ми спостерігали як агрегати з 2-3 протопластів (рис. 3а), так і ланцюжки з 5-6 протопластів (рис. 3б). З таких гібридних клітин можуть утворитися рослини – регенеранти.



**Рис. 3. Утворення агрегатів з 2 – 3 протопластів (а)  
та ланцюжка з 5 – 6 протопластів (б)**

При цьому виникало питання щодо механізму цього злиття. Вважаємо, що адгезії протопластів сприяв дещо гіпотонічний водний розчин усередині клітини за рахунок нагромадження іонів натрію [17]. При цьому знижувався негативний заряд на зовнішній мембрані, що й дало можливість злитися протопластам. Іншими словами, умови деполаризації мембрани сприяли цитоплазматичному злиттю. Присутність іона  $\text{Na}^+$  також викликала локальну перебудову в ліпопротеїновій мембрані, яка в свою чергу дозволила вступити в контакт двом або більше областям клітини. Додатковий одиничний імпульс постійного струму викликав латеральну дифузію білків мембрани, утворюючи при цьому вільні від глікопротеїдів ліпідні області, що і призвело до утворення пор у сильно стиснутих мембранах, в результаті чого відбувалося перетікання цитоплазми, оскільки змінний струм утримував протопласти разом деякий час, і протопласти в таких

агрегатах зливались (рис. 4). Затухаючий струм призвів до повернення сферичної форми у протопластів, що злилися.



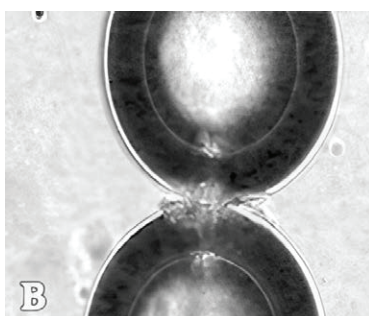
**Рис. 4. Латеральна дифузія білків мембрани (а), утворення пори (б), перетікання цитоплазми (в)**

Однак, як показують наші експерименти, протягом 10-30 хвилин оголений протопласт покривається желатиною оболонкою. Желатиновий матеріал, як конверт, поширюється по поверхні протопласту протягом декількох хвилин, щоб дати можливість відновитися первинній мембрані або ж синтезуватися вторинній мембрані, щоб запобігти втраті вмісту цитоплазми. У першому чи другому випадку необхідні ліпіди, а на їх утворення потрібно приблизно 12-18 годин.

Експерименти з використанням нільського червоного та різних ферментів показують, що основний конверт має не ліпідну природу. Спочатку він складається з полісахаридів, які відіграють важливу роль у підтримці цілісності первинної оболонки принаймні протягом перших 6 годин. Це дуже важливо, оскільки основний конверт є тимчасовим і спочатку не ліпідним, проте виконує багато властивостей клітинної мембрани і є напівпроникним [18; 19].

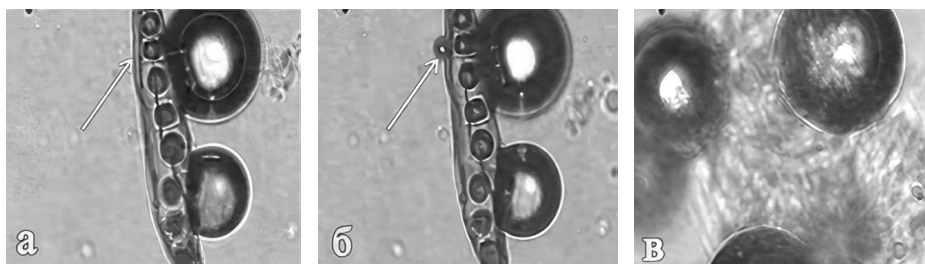
Багато вчених пропонують позначити протоплазм, укладений у желатинову оболонку як суб-протопласт, щоб відрізнити його від протопласту з мембраною. Ми пропонуємо назвати цю структуру псевдопротопласт, оскільки в біотехнології дуже часто користуються терміном субпротопласт маючи на увазі фрагменти, отримані з протопластів.

Розмір новостворених псевдо-протопластів переважно 30-50 мкм у діаметрі, незгоднакжно від природи токсиканту. Цей розмір майже такий самий, як і розмір клітини цього виду. Виживання псевдо-протопластів було часткове і згоднакжало від їх розмірів. Псевдо-протопласти менше 10 мкм не вижили (рис. 5).



**Рис. 5. Псевдо-протопласти 30-40 мкм (а) та менше 10 мкм (б)**

Псевдо-протопласти більше ніж 100 мкм часто ділилися на кілька невеликих підгруп протопластів (рис. 6 а, б) або вироджувалися (рис. 6 в).



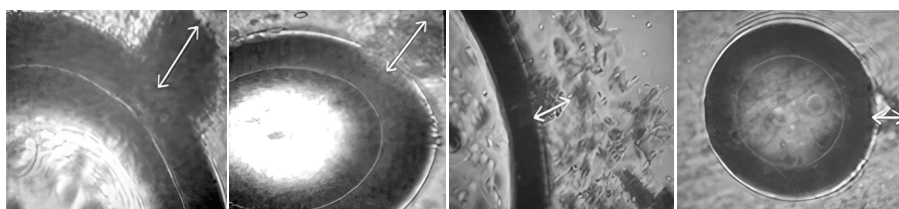
**Рис. 6. Розподіл псевдо-протопласту 100 мкм (а, б) або виродження (в)**

Різке зниження кількості псевдо-протопластів спостерігалось від 9 до 18 годин після токсичного впливу, якраз перед утворенням клітинної мембрани. Отже, відновлення первинної клітинної мембрани або розвиток вторинної клітинної мембрани, здається, є критичним фактором для виживання псевдо-протопластів.

Як показали наші експерименти, регенерація клітинної стінки відбувалася приблизно через 4-6 годин після утворення псевдо-протопластів. Фарбування показало накопичення целюлози на поверхні первинної мембрани. Слід зазначити, що накопичення компонента целюлози відбувалося до початку регенерації первинної мембрани чи розвитку вторинної мембрани.

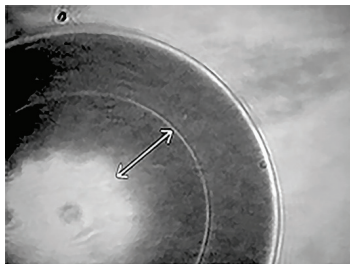
Отже, псевдо-протопласт мав здатність транспортувати компоненти целюлози первинною мембраною. При цьому спостерігалось накопичення ліпідного матеріалу у центрі протоплазми. Цей етап відбувається лише тоді, коли у протоплазмі утворилося гіпотонічне середовище за рахунок іонів натрію. Високий сольовий розчин є гідрофобнішим, ніж низький сольовий розчин і може забезпечити сильніше зусилля для стиснення гідрофобного ліпідного матеріалу від центру мас протоплазми. Гідрофільні матеріали, у тому числі полісахариди, всередині протоплазми виштовхуються в процесі і поширюються поверхнею, щоб утворити клітинну стінку.

Тільки після утворення клітинної стінки починає відновлюватись мембрана. Якщо її пошкодження не настільки великі, то первинна мембрана регенерується за рахунок утворення одного або більше нерозчинних корки. При цьому ми спостерігали утворення, які згодом зменшувалися у розмірі та могли навіть зникати (рис. 7).



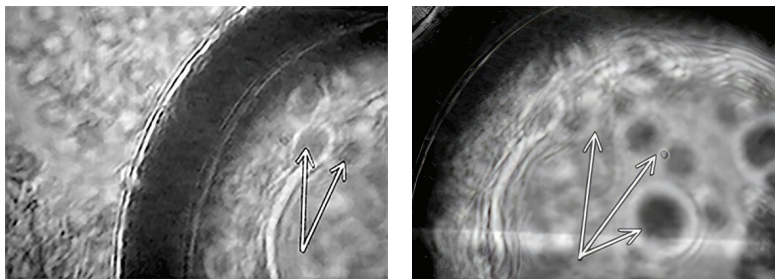
**Рис. 7. Ренерація первинної мембрани**

Якщо пошкодження первинної мембрани великі, то клітина починає синтезувати вторинну концентричну мембрану [20] (рис. 8).



**Рис. 8. Утворення вторинної концентричної мембрани**

Припускаємо, що залишок початкової клітинної мембрани стискається в центрі і буде в першу чергу задіяний в утворенні вторинної мембрани. Отже, існує джерело ліпідів для побудови другої мембрани [21]. Мікроскопічні дослідження свідчать про значну аглютинацію клітинних мембран у псевдо-протопласті, внаслідок чого нова клітинна мембрана може бути сформована шляхом злиття з оригіналом, з первинною мембраною, котра розпалася з утворенням цитоплазматичних бульбашок на поверхні протоплазми (рис. 9).



**Рис. 9. Деструкція первинної мембрани з утворенням цитоплазматичних пухирців**

Отже, ліпідний матеріал у центрі протоплазми може бути залишком вихідної клітинної мембрани, який, швидше за все, повинен бути включений з часом до системи вторинної концентричної мембрани.

## ВИСНОВКИ

Утворення вторинних концентричних мембран як відповідь на дію токсикантів було вивчено протягом багатьох років на різних групах рослин та водоростей. Слід зазначити, що цей процес ми розглядаємо лише як процес регенерації, щоб зберегти цілісність рослин. При цьому ми не виключаємо і той факт, що вищевикладене може бути витлумачено як один із головних механізмів адаптації, при якому рослини можуть

спонтанно генерувати сотні нових життєздатних клітин, які швидше адаптуються до змінених умов існування за рахунок соматичної гібридизації.

Вважаємо, що в спонтанній регенерації клітинної оболонки можна виділити чотири основні стадії: 1) утворення протопласту; 2) формування псевдо-протопласту; 3) синтез клітинної стінки; 4) альтерація первинної мембрани або формування вторинної концентричної мембрани.

Очевидно, регенерація клітинної оболонки може бути важливою моделлю вивчення таких процесів, як взаємодія різних клітинних органел, формування різних типів гібридних клітин і особливо, еволюції клітинних мембран.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Kim G.H., Hwang M.S., Fritz L., Lee I.K. (1995). The wound healing response of *Anti-thamnion nipponicum* and *Griffith siapacipica* (Ceramiales, Rhodophyta) monitored by lectins. *Phycol. Research*. 43. P. 161–166.
2. Mariani-Colombo P., Vannini G.L., Mares D. (1980). A cytochemical approach to the wound repair mechanism in *Udotea petiolate* (Siphonales). *Protoplasma*. 104. P. 105–117.
3. McNeil P. L., Vogel S. S., Miyake K., Terasaki M. (2000). Patching plasma membrane disruptions with cytoplasmic membrane. *J. Cell Sci*. 113. P. 1891–1902.
4. Menzel D. (1988). How do giant plant cells cope with injury? – The wound response in siphonous green algae. *Protoplasma*. 144. P. 73–91.
5. Nawata T., Kikuyama M., Shihira-Ishikawa I. (1993). Behavior of protoplasm for survival in injured cells of *Valonia ventricosa*: involvement of turgor pressure. *Protoplasma*. 176. P. 116–124.
6. Костюк К.В. Структурно-функціональні реакції клітин водних рослин на дію токсикантів : автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.17 ; НАН України, Ін-т гідробіології. Київ, 2011. 21 с.
7. Остапченко Л.І., Компанець І.В., Синельник Т.Б. Біологічні мембрани та основи внутрішньоклітинної сигналізації: методи дослідження : навч. посіб. Київ : ВПЦ Київський університет, 2017. 447 с. (укр.)
8. Myung-Kyu Choi, Sangwon Son, Mingi Hong, Min Sung Choi, Jae Young Kwon, and Junho Lee. Maintenance of Membrane Integrity and Permeability Depends on a Patched-Related Protein in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 2016 Apr; 202(4): 1411–1420. Published online 2016 Feb 5. doi: 10.1534/genetics.115.179705.
9. Клітинна біофізика: структурна організація та біофізичні властивості мембран : навч.-метод. розроб. / упорядн. К.І. Богуцька. Київ, 2020. 50 с. (укр.)
10. Anubhav Singh, Anuj Sharma, Rohit K. Verma, Rushikesh L. Chopade, Pritam P. Pandit, Varad Nagar, Vinay Aseri, Sumit K. Choudhary, Garima Awasthi, Kumud K. Awasthi and Mahipal S. Sankhla. Singh A. Heavy Metal Contamination of Water and Their Toxic Effect on Living Organisms. *The Toxicity of Environmental Pollutants*. Submitted: February 2nd, 2022 Reviewed: April 27th, 2022 Published: June 15th, 2022 DOI: 10.5772/intechopen.105075. URL: <https://www.intechopen.com/chapters/82246>.
11. Grubinko V. V., Kostiuk K. V. Structural Changes in the Cellular Membranes of the Aquatic Plants under the Impact of Toxic Substances. *HydrobJ*. Volume 48, Issue 2, 2012, pp. 40–54. DOI: 10.1615/HydrobJ. v48.i2.60.
12. Broda B. Metody histochemii roslinnej. (1971) Warszawa: *Panstwo wyzakladwy dawnictw lekarskich*. 255 p.
13. Демченко О.П. Сучасні уявлення про структуру і динаміку біологічних мембран. *Біополімери і клітина*. 2012. № 1. Т. 28. С. 24–38. (укр.)
14. Горда А.І., Грубінко В.В. Вплив дизельного палива на біосинтез протеїнів, вуглеводів і ліпідів у *Chlorella vulgaris* Beijer. *Biotechnologia Acta*. 2011. № 6. Т. 4. С. 74–81. (укр.)



15. Костюк К.В. Специфічні та неспецифічні реакції клітин гідробіонтів на дію важких металів та нафтопродуктів / К.В. Костюк, В.В. Грубінко. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. Спеціальний випуск: Фізіолого-біохімічні та екосистемні механізми формування токсикорезистентності біологічних систем, присвячений пам'яті член-кореспондента Академії педагогічних наук України, доктора біологічних наук, професора Олександра Федотовича Явоненка. 2011. № 2(47). С. 35–43. (укр.).
16. Курський М.Д., Кучеренко С.М. Біомембранологія : навч. посіб. Київ : Вища шк., 1993. 260 с. (укр.).
17. Luckey M. (2014). *Membrane structural biology: with biochemical and biophysical foundations*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. 423 p.
18. Kobayashi, K., Kanaizuka, Y. (1985). Reunification of sub-cellular fractions of *Bryopsis* into viable cells. *Plant Sci*. 40. P. 129–135.
19. Tatewaki M., Nagata K. (1970). Surviving protoplasts in vitro and their development in *Bryopsis*. *J. Phycol.* 6. P. 401–403.
20. Луців А.І., Грубінко В.В. Особливості поглинання  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  і  $Pb^{2+}$  клітинами *Chlorella vulgaris* Beijer. *Доповіді Національної академії наук України*. 2013. № 7. С. 138–145. Бібліогр.: 15 назв. (укр.).
21. Грубінко В.В., Горда А.І., Боднар О.І. Метаболізм водоростей за дії іонів металів водного середовища (огляд). *Гидробиол. журн*. 2011. 47, № 4. С. 80–95. (укр.)

## REFERENCES

1. Kim G.H., Hwang M.S., Fritz L., Lee I.K. (1995). The wound healing response of *Antithamnion nipponicum* and *Griffith siapacipica* (Ceramiales, Rhodophyta) monitored by lectins. *Phycol. Research*. 43. P. 161–166.
2. Mariani-Colombo P., Vannini G.L., Mares D. (1980). A cytochemical approach to the wound repair mechanism in *Udotea petiolate* (Siphonales). *Protoplasma*. 104. P. 105–117.
3. McNeil P. L., Vogel S. S., Miyake K., Terasaki M. (2000). Patching plasma membrane disruptions with cytoplasmic membrane. *J. Cell Sci*. 113. P. 1891–1902.
4. Menzel D. (1988). How do giant plant cells cope with injury? – The wound response in siphonous green algae. *Protoplasma*. 144. P. 73–91.
5. Nawata T., Kikuyama M., Shihira-Ishikawa I. (1993). Behavior of protoplasm for survival in injured cells of *Valonia ventricosa*: involvement of turgor pressure. *Protoplasma*. 176. P. 116–124.
6. Kostiuk K. V. (2011). Strukturno-funktsionni reaktsii klityn vodnykh Roslyn na diiu toksykanativ [Structural and functional reactions of cells of aquatic plants to the action of toxicants]. avtoref. dys. ... kand. boil. nauk: 03.00.17 / NAN Ukrainy, In-t hidrobiolohii. K., 2011. 21 s. [in Ukrainian].
7. Ostapchenko L. I., Kompanets I.V., Synelnyk T.B. (2017). Bioloichni membrany ta osnovy vnutrikliynnoi suhnalzatsii [Biological membranes and the basics of intracellular signaling: research methods]. metody doslidzhennia: navch. posib. / K.: VPTs Kyivskyi universytet, 2017. 447 s. [in Ukrainian].
8. Myung-Kyu Choi, Sangwon Son, Mingi Hong, Min Sung Choi, Jae Young Kwon, and Junho Lee. Maintenance of Membrane Integrity and Permeability Depends on a Patched-Related Protein in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 2016 Apr; 202(4): 1411–1420. Published online 2016 Feb 5. doi: 10.1534/genetics.115.179705
9. Klitynna biofizyka: strukturna orhanizatsiia ta biofizychni vlastyvoli membrane [Cellular biophysics: structural organization and biophysical properties of membranes]. Navch.-metod. rozrob. / uporiadn. K. I. Bohutska. K., 2020. 50 s. [in Ukrainian].

10. Anubhav Singh, Anuj Sharma, Rohit K. Verma, Rushikesh L. Chopade, Pritam P. Pandit, Varad Nagar, Vinay Aseri, Sumit K. Choudhary, Garima Awasthi, Kumud K. Awasthi and Mahipal S. Sankhla. Singh A. (2022). Heavy Metal Contamination of Water and Their Toxic Effect on Living Organisms. *The Toxicity of Environmental Pollutants*. Submitted: February 2nd, 2022 Reviewed: April 27th, 2022 Published: June 15th, 2022 DOI: 10.5772/intechopen.105075 URL: <https://www.intechopen.com/chapters/82246>
11. Grubinko V. V., Kostiuk K. V. (2012). Structural Changes in the Cellular Membranes of the Aquatic Plants under the Impact of Toxic Substances. *Hydrobiological Journal*. Volume 48, Issue 2, 2012, pp. 40-54 DOI: 10.1615/HydrobJ. v48.i2.60.
12. Broda B. Metody histochemii roslinnej (1971). Warszawa: *Panstwo wyzakladwy dawnictw lekarskich*. 255 p.
13. Demchenko O. P. (2012). Suchasni uivlennia pro strukturu I dynamiku biolohichnykh membrane [Modern ideas about the structure and dynamics of biological membranes]. *Biopolimery i klityna*. 2012. №1. T. 28, S. 24-38. [in Ukrainian].
14. Horda A. I., Hrubinko V. V. (2011). Vplyv dyzelnoho palyva na biosyntezy proteiniv, vuglevodiv i lipidiv u *Chlorella vulgaris* Beijer [Effect of diesel fuel on the biosynthesis of proteins, carbohydrates and lipids in *Chlorella vulgaris* Beijer]. *Biotechnologia Acta*. T. 4, № 6. S. 74-81. [in Ukrainian].
15. Kostiuk K. V., Hrubinko V. V. (2011). Spetsufichni ta nespetsufichni reaktsii klityny na diiu vazhkykh metaliv ta naftoproduktiv [Specific and non-specific reactions of hydrobiont cells to the action of heavy metals and oil products]. *Nauk. zap. Ternop. nats. ped. un-tu im. Volodymyra Hnatiuka. Seriya: Biolohiia*. Spetsialnyi vypusk: Fiziolohe-biokhimichni ta ekosystemni mekhanizmy formuvannia toksykorezistentnosti biolohichnykh system, prysviachenyi pamiaty chlen-korespondenta Akademii pedahohichnykh nauk Ukrainy, doktora biolohichnykh nauk, profesora Oleksandra Fedotovycha Yavonenka. № 2 (47). S. 35-43. [in Ukrainian].
16. Kurskyi M. D., Kucherenko S. M. (1993). Biomembranoloheia [Biomembranology]: navch posib. K.: Vyshcha shk. 260 s. [in Ukrainian].
17. Luckey M. (2014). Membrane structural biology: with biochemical and biophysical foundations. *Cambridge University Press*, Cambridge, United Kingdom. 423 p.
18. Kobayashi, K., Kanaizuka, Y. (1985). Reunification of sub-cellular fractions of *Bryopsis* into viable cells. *Plant Sci*. 40. P. 129-135.
19. Tatewaki M., Nagata K. (1970). Surviving protoplasts in vitro and their development in *Bryopsis*. *J. Phycol.* 6. P. 401-403.
20. Lutsiv A. I., Hrubinko V. V. (2013). Osoblyvosti poglynnannia  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  i  $Pb^{2+}$  klitynyamy *Chlorella vulgaris* Beijer [Features of absorption of  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  by *Chlorella vulgaris* Beijer cells]. *Dopovidi Natsionalnoi akademii nauk Ukrainy*. 2013. № 7. S. 138-145. Bibliohr.: 15 nazv. [in Ukrainian].
21. Hrubinko V. V., Horda A. I., Bodnar O. I., Klochenko G. D. (2011). Metabolizm vodorostei za dii ioniv metaliv vodnogo seredovyscha (ohlyad) [Metabolism of algae under the influence of metal ions in the aquatic environment (review)]. *Hidrobiol. zhurn*. 2011. 47, № 4. S. 80-95. [in Ukrainian].

## ABSTRACT

### THE MECHANISM OF FORMATION OF A SYSTEM OF SECONDARY CONCENTRIC MEMBRANES IN HIGHER AQUATIC PLANTS UNDER THE ACTION OF TOXIC SUBSTANCES ON THE EXAMPLE OF LÉMNA MINOR L.

It's hard to imagine that such difficult structure as cell membrane can be restored, but it is restored through the formation of secondary concentric membrane.

The ability of many organisms to regenerate partial breaks in their cell membrane has been well studied [16; 18; 19]. When cells are damaged, they quickly repair damage in the membrane, forming one or more insoluble plugs. These insoluble plugs are composed of lipids and polysaccharides to prevent loss of cytoplasm content. Over time, the cells restore their original volume and shape. [20; 21]. Given the large size of the cells, it should be understood that these breakdowns can be many. Other processes associated with the formation of a system of secondary concentric membranes are involved here [9].

Our results shows that secondary membrane isn't temporary, it's functions are the same as primary cell membrane and it's formation takes just few hours. In this investigation we offer full description of the fact how secondary concentric membrane is formed, also stages of this process and meaning during adaptation.

A complete explanation of how these cells repair the damaged membrane, including the cell wall, remains to be determined. Therefore, the purpose of this article was to study the processes of formation of the secondary concentric membrane and cell wall on the example of higher aquatic plants *Lémna minor* L.

Cell wall regeneration can be an important model for studying processes such as the interaction of various cellular organelles, the formation of different types of hybrid cells and especially, the evolution of cell membranes.

In the spontaneous regeneration of the cell wall, four main stages can be distinguished: 1) Protoplast formation; 2) Pseudo-protoplast formation; 3) cell wall synthesis; 4) formation of a secondary concentric membrane.

**Key words:** *Lémna minor* L, protoplasts, pseudo-protoplast, double concentric membrans, parasexual hybridization, somatic hybrids, regeneration.