

Висновки. Підводячи підсумки викладеному вище, можна зазначити, що досліджені реакції клітин *Euglena gracilis* Klebs. на токсичність зростаючих концентрацій шестивалентного хрому свідчать, що стійкість водорості залежить від комплексу факторів, найважливішим з яких є стан організму в момент дії токсиканту. На логарифмічній стадії росту чутливість клітин до токсичності хрому проявляється сильніше. На стаціонарній стадії росту припинення рухливості клітин спостерігається при значно менших концентраціях хрому. Це може свідчити про існування інших пригнічуючих рухливості клітин факторів, якими можуть бути, наприклад, метаболіти, що виділяються іншими клітинами або нестача того чи іншого поживного елементу. Встановлена концентрація шестивалентного хрому при якій спостерігається пригнічення 50% клітин, це 45 мг/л (ЛД₅₀). При всіх використаних в експерименті концентраціях шестивалентного хрому (від 0,05 до 135 мг/л) клітини *Euglena gracilis* залишалися живими й зберігали здатність до синтезу хлорофілу. Отже, можна зазначити, що інтервал порогових концентрацій (ІПК) токсичних речовин (наприкладі шестивалентного хрому) може бути критерієм адаптаційного потенціалу клітин різного систематично-

го рівня при хронічному впливі певного токсиканту, показником стійкості та чутливості популяцій цих клітин в природі до різних токсичних сполук, а також специфічності дії останніх на внутріклітинні процеси. Оцінка порогу чутливості клітин дозволяє розрахувати екологічно допустиму концентрацію токсиканту, яка дозволить зберегти життєздатність природної популяції будь-якого організму при конкретному рівні чисельності. Збільшення ІПК в процесі формування популяції в природі буде свідчити про підвищення її адаптаційного потенціалу.

1. Галочка Л.Д. Об адаптации водорослей. – М., 1981. 2. Данилов Р.А., Нильс Г.П., Екелунд А.Д. Адаптация фотосинтетического аппарата *Euglena gracilis* к условиям различной концентрации токсических веществ // Альгология. – 2000. – № 3. – С. 244–249. 3. Калиниченко К.П. Оценка токсичности солей некоторых металлов методом бактериального тестирования // Биология. – 2005. – № 3. – С. 190–192. 4. Масюк Н.П., Посудин Ю.И., Лилицкая Г.Г. Фотодвижение водорослей: сравнительно-систематический аспект // Альгология. – 2006. – № 1. – С. 16–36. 5. Паршикова Т.В., Сиренко Л.А., Щеголева Т.Ю., Колесников В.Г. Экспресс-контроль роста и физиологического состояния микроводорослей // Альгология. – 2001. – № 3. – С. 403–413. 6. Hader D., Colombetti G., Lenci E. Phototaxis in the Flagellates, *Euglena gracilis* and *Ochromonas donica* // Microbiologia. – 1981. – № 14. – P. 31–40.

Надійшла до редколегії 20.12.06

УДК 575.224.46

О. Проніна, інж., В. Безруков, канд. біол. наук

ВПЛИВ УЛЬТРАФІОЛЕТУ РІЗНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СКЛАДУ НА ДРІЖДЖІ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Вивчали летальну та рекомбіногенну дію УФ С та повного УФ спектру (А, В, С) та видимого світла на клітини штаму *Saccharomyces cerevisiae* з дефектним геном ексцизійної репарації *rad2*. Виявлено відмінності в виживаємості та частоті мітотичного кросингверу в залежності від спектру УФ випромінювання.

Lethal and recombinogenic effects of UV C and full spectrum (UV A, B, C and visible light) radiation on excision repair deficient strain (gene *rad2*) of *Saccharomyces cerevisiae* cell were analyzed. It was revealed differences in surviving and mitotic crossing-over rate in irradiated cells depending on UV spectrum.

Вступ. Ультрафіолетове випромінювання є мутагеном з відомими механізмами пошкодження ДНК та їх репарації [4]. Максимальною мутагенною та летальною дією характеризується УФ-промінь з найменшою довжиною хвилі (УФ С). УФ з довгохвильової частини спектру (УФ А) в певних дозах може бути сприятливим для живих організмів, оскільки сприяє фотореактивації (репарації ДНК) та синтезу вітаміну Д. У природних умовах на організм одночасно впливає інфрачервоне, видиме світло та довгохвильовий УФ А. Крім УФ А до поверхні Землі доходить частина короткохвильового УФ В, який негативно впливає на організм, викликаючи опік, та підвищуючи нестабільність геному. Сумарний ефект залежить від співвідношення цих складових та загальної дози опромінення. При цьому основним є питання про модифікацію дії короткохвильового УФ одночасним впливом інших частин УФ спектру. Метою даної роботи було порівняння летальної та рекомбіногенної дії двох типів УФ-опромінювання – виключно УФ С та УФ випромінювання повного спектрального складу.

Об'єкт і методи дослідження. У роботі використано 2 лампи: БУВ-15 та ДРК-120. Лампа БУВ-15 випромінює УФ з довжиною хвилі 254 нм (лінійчатий спектр). Потужність лампи 15 Вт. Лампа ДРК-120 – ртутно-кварцева лампа надвисокого тиску, дає повний спектр УФ та видиме світло. Вимірювання інтенсивностей падаючого світлового потоку проводили за допомогою спектрорадіометру СРП-86.

У роботі використовували штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* T2 [1], люб'язно наданий С.В. Ковальцовою (Лабораторія генетики еукаріот

Санкт-Петербурзького інститута ядерних досліджень РАН). Генотип штаму: *a/α ade2-192/ade2-G45 rad2/rad2*. Мутація *rad2* блокує інцизію – перший етап ексцизійної репарації ДНК, внаслідок чого клітини стають дуже чутливі до ультрафіолетового опромінення [3]. До генотипу штаму введено генетичні маркери які дозволяють проводити визначення частоти мітотичного кросингверу на ділянці XV хромосоми. Аллелі *ade2-192* (надає колоніям червоний колір) та *ade2-G45* (надає колоніям рожевий колір) є комплементарними, внаслідок чого колонії гетероалельного диплоїда є білими та аденін-незалежними. Мітотичний кросингвер призводить до появи мозаїчних за *ade2* мутацій сестринських ядер, що визначають за появою секторних червоно-рожевих або біло-червоно-рожевих колоній. Крім секторних колоній вище зазначених типів в розсіві можлива поява червоних, рожевих або біло-червоних, біло-рожевих колоній. До їх появи може призводити загибель однієї з кросоверних клітин після мітотичного кросингверу, делеції, генні мутації, порушення розходження хромосом та ін. Всі події, які призводять до появи кольорових колоній в розсіві T2, автори штаму поєднують як індуковану мітотичну сегрегацію і використовують її частоту для характеристики рівня порушень в генетичному апараті клітини разом з частотою мітотичного кросингверу.

Опромінення клітин та подальші процедури проводили за стандартною методикою [2] з деякими модифікаціями. Триденну культуру клітин штаму змивали дистиллятом з поверхні твердого поживного середовища YPD. Суспензію центрифугували 5 хвилин з швидкістю 1000 об/хв (ротор РУ 180Л). Верхню частину

супернатанту (близько половини загального об'єму), що являла собою моноклітинну суспензію, переносили до іншої пробірки. За допомогою камери Горяєва визначали концентрацію клітин у суспензії та доводили її до 10^6 кл/мл.

Цією суспензією засівали 5 чашок з розрахунку 200 клітин на чашку (контроль). Після цього 4 мл суспензії опромінювали у стандартній чашці Петрі. Через кожні 30 сек опромінення відбирали частину суспензії та висівали на 5 чашок таким чином, щоб кількість виживших клітин на чашці дорівнювала 200 (визначення коефіцієнтів розведення проводили у заздалегіть проведеному досліді). Часові проміжки опромінення становили 30, 60, 90, 120, 150, 180 та 210 секунд. Для запобігання фотореактивації працювали з опроміненою суспензією при тьмяному світлі, висіяні клітини вирощували в темряві. Після 5-денної інкубації при 30°C рахували кількість колоній, що виросли на чашках та кількість кольорових колоній різних типів серед них.

Вживаємість клітин у контролі приймали за 100%, виживаємість опромінених клітин для кожної дози визначали як процентне співвідношення кількості колоній, що виросли після опромінення даною дозою, до загальної кількості колоній, що виросли у контролі, з урахуванням коефіцієнту розведення. Частоту мітотичного кросинговеру визначали як процентне співвідношення кількості секторних рожево-червоних та біло-рожево-червоних колоній до загальної кількості колоній на чашках, частоту мітотичної сегрегації визначали як процентне співвідношення кількості кольорових колоній до загальної кількості колоній на чашках.

Кожен дослід повторювали не менше як 3 рази, обчислені показники виживаємість та частоти мітотичного кросинговеру усереднювали з урахуванням кількості колоній (середньозважене) та обчислювали стандартну похибку середнього.

Результати та їх обговорення. Спектрорадіометр СРП-86 дає змогу реєструвати інтенсивність світлового потоку окремо для кожного УФ діапазону (А, В та С) та сумарного потоку видимого світла. Виміри інтенсивності падаючого потоку обох ламп проводили для кількох відстаней від джерела опромінення (від 0,145 до 2,3 м для лампи ДРК-120 та від 0,5 до 2,3 м для лампи БУВ-15). Для 0,145, 0,5, 1 та 1,5 м було отримано дані по інтенсивності падаючого потоку лампи ДРК-120 з світлофільтрами УФС1, УФС2 та СФ1. Згідно з вимірами, лампа ДРК-120 випромінює УФ усіх діапазонів та видиме світло, при застосуванні світлофільтрів співвідношення між їх інтенсивностями змінюється (дані не наведені). Майже все випромінювання лампи БУВ-15 припадає на УФ С діапазон, на відстанях 0,5 та 1 м між опромінювачем та поверхнею реєстрували також слабе випромінювання в УФ В (1% від інтенсивності УФ С) та УФ А (1%) діапазонах, видиме світло випромінюється на рівні 3%.

Оптимальні умови опромінення клітин підібрали в серії дослідів, в яких змінювали спочатку відстань між лампою та опромінюваною поверхнею, а потім часові проміжки обробки. З урахування отриманих даних по виживаємість клітин опромінення проводили на відстані 2,3 м. Інтенсивність падаючого УФ С потоку обох ламп за умов опромінення, застосованих у досліді, співпадала і становила $0,21\text{ Вт/м}^2$, але у спектрі випромінювання лампи ДРК-120 були присутні складові УФ В ($0,06\text{ Вт/м}^2$), УФ А ($0,08\text{ Вт/м}^2$) та видимого світла ($0,13\text{ Вт/м}^2$). Оскільки інтенсивність падаючого УФ С потоку обох ламп за умов опромінення, застосованих у досліді, співпадала, необхідність вирівнювання доз УФ С ультрафіолету (підбір часових проміжків обробки або застосуванням світлофільтрів) відпала.

Отримані в досліді показники виживаємість клітин та частоти мітотичного кросинговеру та мітотичної сегрегації наведено в таблиці 1.

Таблиця 1. Вживаємість, частота мітотичного кросинговеру та мітотичної сегрегації в клітинах штаму T2 дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, опромінених УФ лампами ДРК-120 та БУВ-15. Для лампи ДРК-120 дози випромінювання наведено для повного УФ спектру та в дужках для УФ С

Доза УФ (УФ С) Дж/м ²	Кількість проаналізованих колоній	Ig виживаємість %	Частота мітотичної сегрегації, %	Частота мітотичного кросинговеру, %
ДРК-120				
0,00	3178	2,00	0,09±0,13	0,00
10,50 (6,30)	2670	1,93±0,09	1,23±0,42	0,04±0,00
21,00 (12,60)	3810	1,88±0,11	1,96±0,15	0,10±0,09
31,50 (18,90)	3120	1,77±0,15	2,26±0,48	0,26±0,23
42,00 (25,20)	3375	1,65±0,16	3,92±0,89	0,33±0,22
52,50 (31,50)	2231	1,48±0,04	4,37±1,13	0,54±0,09
63,00 (37,80)	2177	1,22±0,11	5,80±0,44	0,51±0,07
73,50 (44,10)	2393	0,93±0,31	5,87±2,66	0,29±0,10
БУВ-15				
0,00	3420	2,00	0,06±0,07	0,00
6,30	2676	1,91±0,06	0,61±0,42	0,07±0,06
12,60	2347	1,85±0,04	1,99±1,20	0,21±0,30
18,90	3448	1,71±0,11	3,28±0,30	0,32±0,17
25,20	3799	1,53±0,10	4,14±0,78	0,61±0,45
31,50	2786	1,22±0,07	5,60±0,46	0,47±0,32
37,80	3243	1,00±0,24	6,29±0,77	0,52±0,33
44,10	2220	0,67±0,12	7,03±0,35	0,59±0,38

Вживаємість в залежності від дози УФ С промінів обох ламп є досить близькою, але зменшення частка життєздатних клітин, опромінених світлом лампи ДРК-120, відбувається дещо повільніше, причому ця різниця зростає з дозою. Таку ж тенденцію виявляють і залежності частоти мітотичного кросинговеру від дози УФ С, при цьому максимальний рекомбіногенний ефект викликає доза 25,20 Дж/м² для лампи БУВ-

15 ($0,61\pm0,45\%$) та доза 31,50 Дж/м² УФ С діапазону лампи ДРК-120 ($0,54\pm0,09\%$). Частота мітотичної сегрегації є також приблизно однакова при опроміненні обома лампами. При максимальних дозах опромінення лампою ДРК-120 вона сягає $5,87\pm2,66\%$ та $7,03\pm0,35\%$ – при опроміненні лампою БУВ-15.

Зменшення летального та рекомбіногенного ефекту УФ С, що реєструється при одночасній дії ультрафіолету

В та А діапазонів і видимого світла (умови опромінення лампою ДРК-120) можна пояснити кількома причинами. По-перше, можливо, що це вплив процесу фотореактивації, який ініціюється променями УФ А діапазону та видимим світлом. Згідно з вимірами інтенсивностей падаючого потоку, на УФ А діапазон та видиме світло припадає відповідно близько 23 та 27% від загального світлового потоку лампи ДРК-120. Водночас ці ділянки спектру фактично відсутні в спектрі лампи БУВ-15. По-друге, можна припустити існування різниці в розподілі інтенсивностей випромінювання в межах самого УФ С діапазону між лампами. Можливо, що в данному випадку наявне неспівпадання в потужності випромінювання ультрафіолету з довжиною хвилі біля 260 нм. Однак, наростання різниці між показниками виживання клітин з зростанням дози свідчить на користь першої гіпотези. Обрати одну з цих гіпотез можна лише після додаткових досліджень.

УДК 599.462

Висновок. У результаті проведеного дослідження встановлено пом'якшуючий ефект видимого світла та довгохвильового ультрафіолету на летальну та рекомбіногенну дію УФ С

Роботу було виконано в межах програми "Захист генотипу та імунної системи населення України".

Автори висловлюють подяку співробітникам Інституту медицини праці за допомогу у проведенні вимірів інтенсивностей падаючого світлового потоку УФ випромінювачей.

1. Захаров І.А., Ковальцова С.В., Марфин С.В. Штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для изучения индуцированного мутагенеза и рекомбинации // Генетика – 1979. – Т. 15, N 1. 2. Захаров І.А., Кожин С.В., Кожина Т.А., Федорова І.В. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромикетов – Л., 1984. 3. Prakash L., Prakash S. Excision repair genes of *Saccharomyces cerevisiae*. // Annali dell Istituto Superiore di Sanita. – 1989. – N 25. 4. Sinha R., Hader D. UV-induced DNA damage and repair: a review// Photochem. Photobiol. Sci. – 2002. – N 1 – P. 225–236.

Надійшла до редколегії 15.09.06

А. Голенко, студ., І. Дзеверін, канд. біол. наук,
С. Мякушко, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ ЖИВЛЕННЯ ТА ЗИМІВЛІ КОЖАНА ПІЗЬНОГО (*EPTESICUS SEROTINUS*) У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ ПРОТЯГОМ РОКУ

Досліджено особливості живлення та зимівлі кожана пізнього у лабораторних умовах, а також наведена методика утримування виду у неволі. Аналіз відомостей за 1998-2006 рр. дозволив визначити закономірності динаміки інтенсивності живлення особин та втрати маси тіла протягом гібернації, а також прогнозувати причини передчасного припинення сплячки. Розроблено методику утримування кожана, яка може бути успішно застосована до екологічно близьких видів рукокрилих, в тому числі рідкісних.

*The aspects of nutrition and hibernation of *Eptesicus serotinus* in laboratory conditions were studied with the help of complex method of bats keeping ex situ. The data were collected during 1998–2006 years. The main features of dynamics in nutrition of individuals, losing of mass during hibernation and possible causes of contravention of hibernation were revealed. Developed method can be used for keeping of bat species with similar ecological characteristics.*

Вступ. Одним з проблематичних періодів для особин усіх видів тварин, що мешкають у помірних широтах та північніше від них, є зимівля. Її успіх забезпечується виникненням механізмів, призначених для підвищення стійкості особин до впливу низьких температур, вкорочення світлої частини доби, нестачі кормів тощо. Стратегію переживання цього періоду кожним видом визначають наявність взимку кормової бази та здатність швидко пересуватися на великі відстані. Серед хребетних, що не здатні повноцінно жити в умовах палеарктичної зими, переважають рибоїдні та комахоїдні птахи, всі амфібії та рептилії, а також деякі ссавці (в основному – комахоїдні, рукокрилі та декілька видів гризунів і хижих). Таким чином, птахи у більшості випадків мігрують чи кочують, а всі інші групи здебільшого впадають у стан гібернації, заціпеніння або зимового сну. Окрім деяких винятків, у стан гібернації протягом зимового періоду впадають і рукокрилі України, зокрема кожани пізній.

Для накопичення необхідного для зимової сплячки запасу енергії кажани інтенсивно живляться протягом другої частини літа та осені, після чого розміщуються у зручних для зимівлі схованках (найчастіше – печерах та спорудах) і залишаються там до настання перших теплих днів. За оптимальних умов весь цей час вони проводять у повному спокої, без істотної рухової активності. Натомість, у реальних природних зимувальних схованках тварини часто переходять до активного стану під впливом фізичного турбування, змін температури тощо. Це призводить до порушення гібернації, надмірних витрат енергії та, як наслідок, загибелі певної частини особин [1, 4]. Наші попередні дослідження показали, що у деяких випадках рукокрилі можуть виявляти

високу стійкість до негативних впливів протягом зимівлі. Отже, дослідження реакції кажанів на зовнішні впливи під час гібернації, а також більш повне вивчення процесів життєдіяльності різних видів є важливим як для розуміння біології цих тварин, так і для охорони рідкісних та зникаючих видів рукокрилих.

Крім того, проведені дослідження дозволили вдосконалити та відпрацювати методику утримування рукокрилих у лабораторних умовах, що є початковим етапом розробки методики розведення рідкісних видів кажанів. Довготривале утримування великої кількості особин було покладене в основу вивчення особливостей динаміки інтенсивності живлення кожана пізнього протягом періоду літньої активності, а отримані результати доповнили існуючі відомості про зміни активності цих тварин протягом року.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктом даних досліджень став широко розповсюджений на території України синантропний вид – кожани пізній, *Eptesicus serotinus* (Schreber, 1774). Синантропність та продовження розширення ареалу цього виду на північ пов'язані з його екологічною пластичністю. Особин пізнього кожана порівняно легко утримувати в неволі, і вони можуть бути модельними об'єктами при дослідженні механізмів адаптації рукокрилих до несприятливих умов. Важливою є відсутність сезонних міграцій у природних умовах, що дозволяє вивчати зимівлю *E. serotinus* у неволі [6, 7]. Висока щільність популяції кожана у м. Києві забезпечила можливість отримання потрібної кількості особин без проведення відловів біля колоній чи схованок. За всю історію Центру реабілітації рукокрилих, на базі якого проводили спостереження, у лабораторії утримували

© Голенко А., Дзеверін І., Мякушко С., 2007