

У таблиці 1 також наведені середні значення розміру виводка жовтогорлого мишака упродовж різних років спостережень. Добре помітні відмінності від аналогічних показників попереднього виду. В даному випадку найбільші значення зафіксовано на фазі депресії щільності. Звертає на себе увагу і той факт, що індивідуальна плодючість обох видів майже не відрізняється, якщо аналізувати усю сукупність років. Останнє дещо відрізняється від спостережень у попередній період <http://berloga.net/view.php?id=2999> (1980–2000 pp.), коли розмір виводка у мишака в середньому був менший, ніж протягом останніх п'яти років. Можливо саме це дозволило цьому виду зайняти на певний час місце субдомінанта в угрупованні лісових гризунів грабової діброви заповідника.

Індивідуальна плодючість самиць жовтогорлого мишака зменшується з віком особин, а найбільший внесок у збільшення чисельності створюють тварини другої вікової генерації. Спільною рисою для обох видів є в середньому більш великий розмір виводка, що розрахований за кількістю плацентарних плям. Тобто перші репродукції цих гризунів, які припадають на весняний період є численнішими, порівняно з наступними. Припускати в даному випадку вплив зростання щільності популяції у післязимовий період навряд чи правомірно, оскільки вона ніколи не досягає таких значень, які здатні обумовити негативні явища перенаселення. Проте неможна виключати вплив на ці процеси порівняно високої щільності популяції інших видів гризунів.

Висновки. Виявлено, що для популяцій двох видів лісових гризунів на різних фазах динаміки чисельності характерна відносно стабільна частка особин, що приймають участь у розмноженні. При цьому в руді норичі вона є дещо більшою, ніж у жовтогорлого мишака, хоча індивідуальна плодючість їх самок упродовж досліджуваних років відрізняється незначно.

Визначено, що розміри виводка у самиць цих видів зменшується з віком особин. Найбільший внесок в процеси відтворення створюють тварини-цьогогорічки молодших вікових класів, хоча його величина варіює в різні роки. Встановлено, що індивідуальна плодючість у гризунів визначається не тільки фізіологічними особливостями організму тварин певного віку, але й популяційною стратегією в умовах різної щільності населення.

1. Лакін Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1987. – 352 с.
2. Мякушко С.А., Степаненко М.А. // Праці теріологічної школи. – 2006. – Вип. 8. – С. 86–90.
3. Сидоренко Е.В. Методы математической обработки в психологии. – СПб.: Речь, 2001. – 350 с.
4. Степаненко М.А. Зміни вікової структури популяцій та краніометричних показників особин двох видів лісових гризунів // Молодь і поступ біології. 36. тез II міжнарод. наук. конф. студентів та аспірантів. Львів, 2006. – Л., 2006.
5. Тупикова Н.В. Методы изучения природных очагов болезней человека. – М.: Медицина, 1964. – С. 154–191.
6. Шилов И.А. Эколого-физиологические основы популяционных отношений у животных. – М.: Изд-во МГУ, 1977. – 21 с.
7. Bujalska G. Acta theriol. – 1970. – Vol. 15, № 3. – P. 225–234.
8. Hasler J.F. The Biologist. – 1975. – Vol. 57 – P. 52–86.
9. Mappes T., Koskela E. Evolution. – 2004. – Vol. 58, № 3. – P. 645–650.
10. Negus N.C., Pinter A.J. // J. Mammal. – 1965. – Vol. 46. – P. 434–437.
11. Roff D.A. The evolution of life histories: theory and analysis. – N-Y: Chapman and Hall, 1992. – 345 p.
12. Tkadlec E., Krejčova P. // J. Mammal. – 2001. – Vol. 82, № 2 – P. 545–550.
13. Ylonen H. // Trends Ecol. Evol. 1994. – Vol. 9. – P. 426–430.

Надійшло до редколегії 21.12.06

УДК 573.9

П. Лещенко, студ., І. Новікова, асп.,
Т. Паршикова, д-р біол. наук, І. Посудін, д-р біол. наук

РУХЛИВІСТЬ КЛІТИН *EUGLENA GRACILIS* KLEBS. НА РІЗНИХ СТАДІЯХ РОЗВИТКУ В ПРИСУТНОСТІ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМУ

Досліджувався вплив шестивалентного хрому на швидкість фоторуху та механізми фототопотаксису клітин Euglena gracilis. Встановлено, що при несприятливих умовах докілья реалізація стратегій виживання мікроводоростей залежить не тільки від зовнішніх факторів довкілля, але й від процесу становлення системних відносин (на рівні метаболізму) в їх популяції.

Investigate influence of six-valent chrome on speed mobility that machinery phototaxis cells Euglena gracilis. It is proved, that under adverse conditions of an environment realization of life microseaweed depends not only on external factors of environment but also from process of becoming of system attitudes (at a level metabolism) in their populations.

Вступ. Антропогенне забруднення навколишнього середовища стає визначальним фактором дестабілізації біологічних систем різного рівня організації. Вважають [1], що рівень стійкості мікроскопічних водоростей, як основних первинних продуцентів органічних речовин та кисню в водних екосистемах, є основним інтегральним показником функціонального стану живих клітин, характеризуючи їх можливість протистояти дії зовнішніх екстремальних факторів довкілля.

Відомо, що стічні води багатьох підприємств України – металургійних, машино- і приладобудівних, автомобільних тощо містять високотоксичні сполуки шестивалентного хрому Cr(VI). Наприклад, при виробництві СД-дисків для комп'ютерів формуються стічні води з високим вмістом металів: Ni^{+2} 0,1–10,0; Cr^{+3} 0,1–25,0; Cr^{6+} 0,1–25,0; Zn^{+2} 0,1–50; Al^{+3} 1,0–200; Fe^{+3} 1,0–500 мг/л. В зв'язку з цим максимальні концентрації цих речовин в багато разів перевищують гранично допустимі рибгосподарські концентрації для цих металів: Cr^{+3} 0,2–50; Cr^{6+} 2–5000; Fe^{+3} 2–1000; Ni^{+2} 10–1000; Al^{+3} 2–400; Zn^{+2} 10–5000 разів [3]. Як відомо, саме водні організми вимушені першими визначати якість води.

Для оцінки токсичності хімічних інгредієнтів в процесі біотестування водного середовища використовують різноманітні тест-об'єкти: бактерії, водорості, найпростіші, безхребетні організми тощо. Зручним модельним організмом для біотестування є й високосапробна рухлива одноклітинна зелена водорість з родини *Euglenophyta* – *Euglena gracilis* Klebs [2].

Вважають, що дослідження особливостей фоторуху водоростей може допомогти при визначенні диференціальних критеріїв оцінки якості води для різних рівнів її забруднення. Значний інтерес біотестування, як достатньо чутливий й досить швидкий метод, становить для використання в еволюційній біології, екології, прикладній альгології, а також при рішенні проблем біомоніторингу навколишнього середовища.

Метою нашої роботи була оцінка параметрів фоторуху клітин *Euglena gracilis* Klebs., що знаходилися на різних стадіях розвитку, при додаванні зростаючих концентрацій шестивалентного хрому.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідах використовувалась бактеріально чиста культура *Euglena gracilis* Klebs, яка була отримана з Центральної Національної

лабораторії (Італія). Культуру водоростей вирощували на селективному поживному середовищі Громова № 6, при температурі $20 \pm 2^\circ\text{C}$ та освітленні $6,6\text{--}7,4\text{ Вт/м}^2$ (тривалість світла й темряви – 12 / 12 год).

Шестивалентний хром додавали в суспензію водоростей у вигляді $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ через 1, 7, 21 та 28 діб розвитку клітин, що відповідало логарифмічній (1-7 доба) та стаціонарній (починаючи з 13 доби) фазам росту культури. Фізіологічні стадії росту клітин визначались мікроскопічно. Експериментальні виміри фізіологічних показників проводили через 1 добу контакту клітин, які знаходились на різних стадіях росту, з хромом у відповідних концентраціях. В експерименті були використані концентрації Cr(VI) : 0,05 (гранично допустима), 15, 45, 75, 105, 135 мг/л.

Підрахунки кількості клітин водоростей здійснювали за допомогою камери Горяєва на мікроскопі МБІ-6. Контроль пігментного комплексу водоростей здійснювали методом диференціальної флуориметрії з використанням Planctofluorometer FL300 3M [5]. Швидкість руху клітин (V) та фототопотаксис (F) визначали на експериментальній установці кафедри біофізики Національного аграрного університету [4]. Кількісну оцінку фототопотаксису проводили за допомогою параметру $F = n_l - n_t / n_l + n_t$; де n_l та n_t – кількість клітин, що рухались на екрані відеосистеми в

напрямку джерела світла та від нього відповідно протягом певного часу. Повторність дослідів – 3–10-кратна.

Математичне опрацювання одержаних результатів здійснювали з використанням методів статистичного аналізу. Висновки робили за допомогою критерію Стьюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$.

Результати та їх обговорення. Оцінку особливостей реакції клітин водоростей на присутність різних концентрацій хрому в поживному середовищі проводили з врахуванням стадій росту організму, зокрема на логарифмічній та стаціонарній (рис. 1). Як видно з рис. 1, швидкість руху *Euglena* при внесенні в середовище 0,05 мг/л хрому навіть збільшувалась. При підвищенні концентрації хрому до 15 мг/л й вище швидкість руху суттєво знижувалась. На стаціонарній фазі росту (рис. 1) швидкість руху *Euglena* як в контролі, так і особливо при внесенні хрому в поживне середовище навіть в невисокій концентрації зменшувалась більш істотно порівняно із стадією логарифмічного росту. Важливо відмітити, що на стаціонарній фазі росту водорості повністю припиняли свій рух вже при концентрації хрому 75 мг/л. Це, можливо, можна пов'язати з тим, що при збільшенні кількості клітин на стаціонарній фазі росту рухливість може пригнічуватись й внаслідок аномально високої їх кількості.

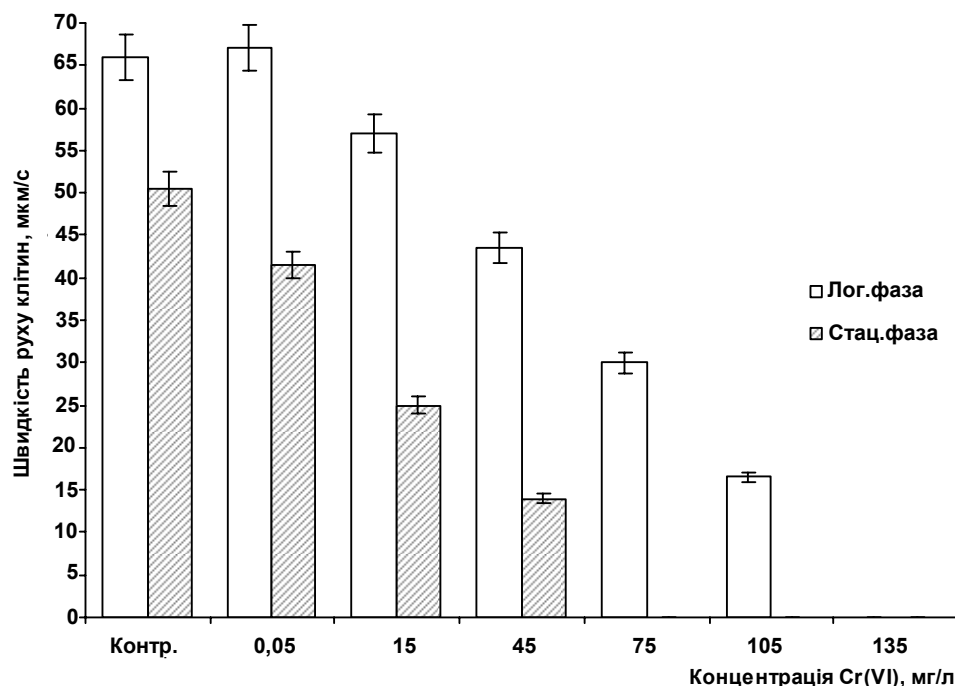


Рис. 1. Швидкість руху клітин *Euglena gracilis* залежно від стадії розвитку

Особливо істотні зміни при внесенні хрому в поживне середовище спостерігались при реєстрації фототопотаксису клітин. На логарифмічній фазі росту мав місце негативний фототопотаксис, а на стаціонарній – позитивний. На думку фахівців [6], зміна знаку фототопотаксису водорості може бути пов'язана з тим, що в цьому випадку починає працювати модуляційний механізм, який сприяє періодичному затіненню фоторецептора (параджгутикового тіла) стигмою.

Ураховуючи, що *Euglena* відноситься до високосапробних водоростей та організмів, що швидко розмножуються спорами, виникає питання про можливість адаптації клітин до хрому, або його нейтралізації за рахунок комплексування або сорбції, окислення чи інших процесів. В зв'язку з цим нас зацікавили зміни хлорофільного показника в клітинах водоростей залежно від стадії розвитку клітин та концентрації хрому. На під-

ставі одержаних даних (рис. 2) ми змогли отримати відповідь на питання, чи залишались клітини живими при контакті їх з хромом. Токсичність шестивалентного хрому збільшувалася послідовно зі зростанням концентрації, але клітини залишались живими, зберігали здатність до синтезу хлорофілу й при найбільшій дослідній концентрації (135 мг/л). На логарифмічній стадії росту при концентрації хрому 15 мг/л реєструвалось падіння вмісту хлорофілу на 35%. При найбільшій дослідній концентрації 135 мг/л спостерігалось пригнічення біосинтезу хлорофілу вже на 80%. Для стаціонарної стадії росту клітин *Euglena* при концентрації хрому 15 мг/л фіксується падіння вмісту хлорофілу лише на 15%, а при максимальній відповідно на 84%. Отже, можна зазначити, що високосапробна зелена водорість залишається стійкою до зростаючих концентрацій найбільш токсичної форми – шестивалентного хрому.

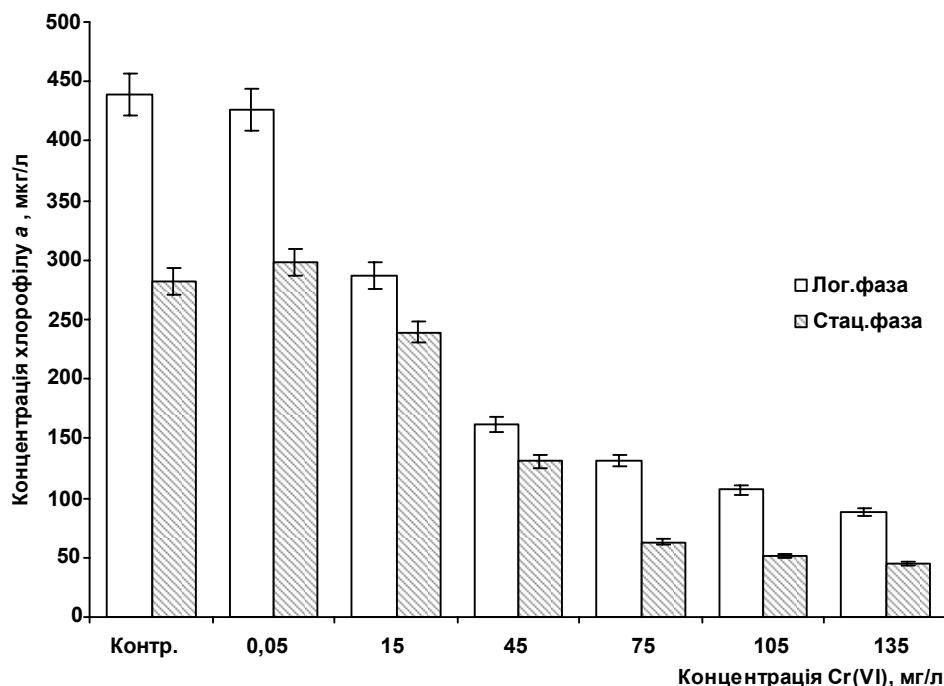


Рис. 2. Зміни концентрації хлорофілу а у *Euglena gracilis* під дією зростаючих концентрацій $K_2Cr_2O_7$

Цей висновок можна підтвердити й отриманими даними по визначенню потенціальної фотосинтетичної активності (ΔF). На логарифмічній стадії росту спостерігається пригнічення фотосинтетичної активності від 50 (для концентрації 45 мг/л) до 80% (для 135 мг/л). Для стаціонарної відповідно – від 30% (для 45 мг/л) до 57% (для 135 мг/л).

Як видно з рис. 3 внесення хрому в поживне середовище по-різному впливало на кількість клітин в поживному розчині. Для логарифмічної стадії росту реєструвалось зменшення кількості клітин порівняно з контролем від 30% (для 15 мг/л) до 60% для максимальної концент-

рації – 135 мг/л. Для стаціонарної стадії росту клітин *Euglena* при додаванні менших дослідних концентрацій (0,05 та 15 мг/л) реєструвалось підвищення кількості клітин відповідно на 45 та 80%. Це, на нашу думку, може свідчити про те, що хром використовувався як мікроелемент, необхідний для розвитку клітин. При подальшому зростанні діючих концентрацій хрому на стаціонарній фазі росту кількість клітин *Euglena* майже не змінювалась. Лише при максимальній діючій концентрації хрому спостерігалось зниження кількості клітин до 30%.

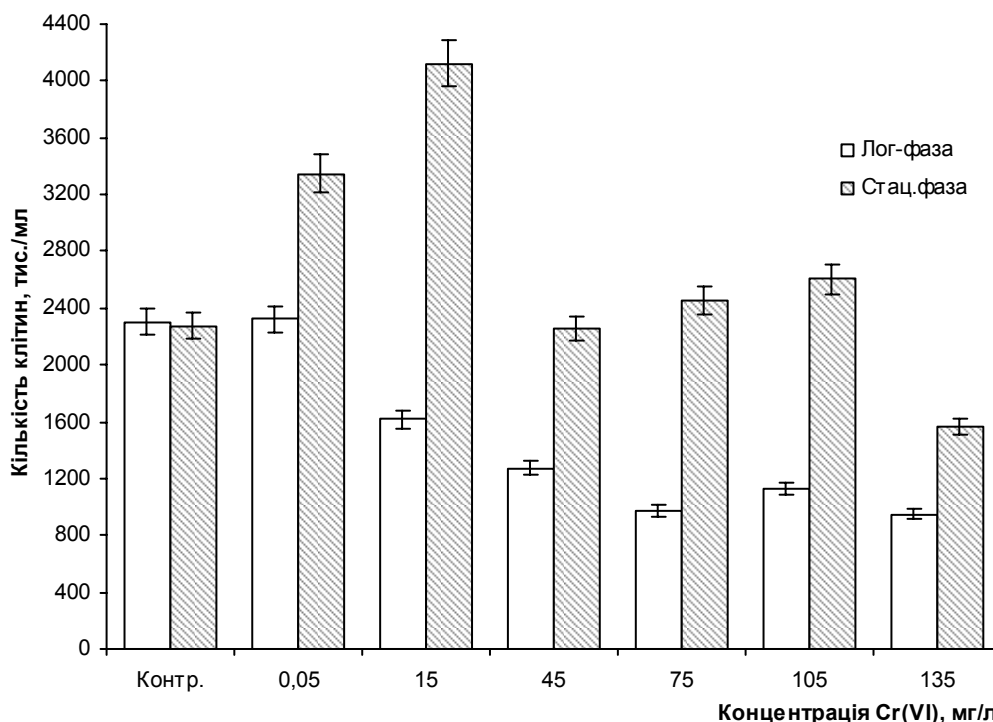


Рис. 3. Вплив $K_2Cr_2O_7$ на чисельність клітин *Euglena gracilis*

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* залишались 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-проміння 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* мутацією 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