

8. *Макрозообентос* / И.А. Синегуб, А.А. Рыбалко, А.С. Бондаренко, С.А. Кудренко // Экосистема Григорьевского (Малого Аджалыкского) лимана. – Одесса: Астропринт, 2008. – С. 178–202.
9. *Несис К.Н.* Некоторые вопросы пищевой структуры морских биоценозов / К.Н. Несис // Океанология. – 1965. – Т. 5. – № 4. – С. 701–704.
10. *Синегуб И.А.* Макрозообентос акватории Одесского порта / И.А. Синегуб // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – Севастополь, 2007. – № 15. – С. 492–500.
11. *Tiganus V.* Donnees preliminaries sur le zoobenthos du substrat meuble de la zone portuaire Constanta / V. Tiganus // Cercetari marina. – 1982. – N 15. – P. 107–114.

И.А. Синегуб

Одесский филиал Института биологии южных морей НАН Украины

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАКРОЗООБЕНТОСА АКВАТОРИЙ ОДЕССКОГО ПОРТА И ПОРТА ЮЖНЫЙ

На илах Одесского порта и порта Южный зарегистрированы 43 и 44 таксонов макрозообентоса (всего 56); преобладали вагильные организмы инфауны. Показатели бентоса в Одесском порту (912 экз.·м⁻², 11,5 г·м⁻²) были выше, чем в порту Южный (506 экз.·м⁻² и 8,7 г·м⁻²). Среди таксономических групп доминировали черви, среди трофических – детритофаги.

Ключевые слова: акватория, порт, макрозообентос, численность, биомасса

I.A. Synyogub

Odesa Branch A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas NAS of Ukraine

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF AREAS OF MACROZOOBENTHOS NEAR ODESA AND YUZHNIY PORTS (UKRAINE)

Of a total of 56 taxa of macrozoobenthos on silts of Odessa and Yuzhniy ports 43 and 44 have been recorded. Vagile in fauna organisms dominate. Benthic indices in Odessa port (912 ind.·m⁻², 11.5 g·m⁻²) were higher than those in Yuzhniy port (506 ind.·m⁻², 8.7 g·m⁻²). Among the taxonomic groups worms dominated and among the trophic-detrophages.

Key words: aquatorium, port, macrozoobenthos, quantity, biomass

УДК [581.526.325.04]

І.О. СКРИПНИК, О.В. КИРСАНОВА

Одеська філія Інституту біології південних морів НАН України
вул. Пушкінська, 37, Одеса 65014

МЕТОДИЧНІ АСПЕКТИ ВИВЧЕННЯ ПОПУЛЯЦІЙ МІКРОВОДОРОСТЕЙ В КУЛЬТУРІ

Здійснено порівняльне вивчення застосування різних методів оцінки впливу токсиканту на клітини мікроводоростей з різним фізіологічним статусом. Встановлено, що при з'ясуванні механізмів впливу токсикантів на клітину доцільно використовувати електрохімічні методи для контролю за життєдіяльністю водоростевих клітин.

Ключові слова: мікроводорості, токсиканти, методи

Нині накопичено чимало даних щодо змін різноманітних ознак організмів, які виникають як реакція-відповідь на один і той самий вплив, у різних особин популяції або навіть в одного й того самого організму, що знаходиться у різному фізіологічному стані [4, 8]. Вони є не тільки різними за силою, а іноді й протилежними за знаком.

При інтегральній оцінці стану популяції мікроводоростей (інтенсивність фотосинтезу, первинна продукція, біомаса) у ході токсикологічного експерименту субпопуляційні ефекти впливу нівелюються та не розглядаються. Проте ряд питань, пов'язаних з адаптацією мікроводоростей до впливу токсикантів та природнього відбору, в цілому, не можуть бути вирішені без урахування гетерогенного характеру популяції [5, 8].

В цій роботі порівняли деякі методичні підходи з метою оцінки впливу токсиканту на клітини мікроводоростей з різним фізіологічним статусом.

Матеріал і методи досліджень

У серії експериментів оцінювався вплив сублетальної концентрації ртуті (20 мкг/дм^3) на поширену дінофітову водорість *Prorocentrum micans* Ehrenb., яку вирощували при постійних умовах температури та освітлення. Для оцінки фізіологічного стану клітин у контролі та за дії досліджуваної концентрації HgCl_2 використовували такі методи:

а) альгологічні: підрахунок клітин мікроводоростей у світлому полі мікроскопу; підрахунок клітин після подвійного суспензійного фарбування нейтральним червоним та метиленовим синім [6, 3]. Перший дифузно забарвлює протоплазму пасивних клітин, а другий – оболонки мертвих клітин [1]. Для фарбування використана схема, що запропонована для морських мікроводоростей [10];

б) фізико-хімічні методи: оцінка ступеня токсичності досліджуваної концентрації за спектрами пропускання та флуоресценції суспензії *Pr. micans*. Спектри пропускання реєструвалися на СФ-24, спектри флуоресценції – на флуориметрі МР-4 «Хітачі» при $\lambda_{\text{осв}}=370 \text{ нм}$ та $\lambda_{\text{осв}}=456 \text{ нм}$.

Крім зазначеного, проводили також оцінку пошкоджених клітин, імобілізованих на пірофітовому електроді, за величиною фототоку у контролі та за дії токсиканту.

В попередніх експериментах було показано, що в області потенціалів $E=-0,1 \text{ В}$ та $E=-0,2 \text{ В}$ на електроді адсорбується приблизно 70% живих клітин (контроль стану проводився за допомогою люмінесцентної мікроскопії). При зміщенні в область позитивних або негативних потенціалів клітини на електроді гинуть.

Пірофітовий електрод витримували у середовищі з водоростями 10 хв., потім його разом з імобілізованими на ньому клітинами (приблизно 20–30) поміщали в середовище з досліджуваною концентрацією HgCl_2 . Про силу впливу судили за інтенсивністю фототоку [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Не зачіпаючи кількісних закономірностей дії токсиканту на *Pr. micans*, що було зроблено раніше, розглянемо лише результати, отримані при застосуванні вищезгаданих методів з точки зору якості одержаної інформації [7].

Застосування найпростішого альгологічного методу – підрахунку клітин у світлому полі мікроскопу – практично не дає можливості оцінити статус клітин у контролі та за дії токсиканту. Оцінка пулу метаболічно активних клітин в межах цього методу може бути проведена при суспензійному фарбуванні клітин вітальними барвниками. Аналогічні результати можна отримати при люмінесцентному аналізі стану клітин. S-подібний характер кривої росту популяції чітко виражений лише в разі підрахунку кількості живих (метаболічно активних) клітин у культурі, а за підрахунку загального числа клітин в культурі протягом деякого часу зниження кривої не спостерігається, хоча розмноження клітин припинялося і спостерігався початок їх масового відмирання. Не враховувати це у ході токсикологічного експерименту, очевидно, некоректно.

Кількість метаболічно неактивних клітин у контролі складала майже 10% при диференційному фарбуванні та децю більше при люмінесцентному аналізі. Спостерігається також невелика різниця в кількості мертвих клітин, що може бути пов'язано з лізисом клітин. Слід зазначити, що аналогічні оцінки пулу різних за фізіологічним станом клітин ускладнюються за використання фізико-хімічних методів. При оцінці стану популяції за допомогою спектрів флуоресценції та пропускання для реєстрації субпопуляційних ефектів доречно проводити підрахунок клітин. Якщо прийняти, що суспензія мікроводоростей є ценозом фізіологічно активних клітин, оптичні властивості якого визначаються як за показниками, що характеризують всю суспензію в цілому (густина, співвідношення живих та мертвих клітин), так і за показниками, що характеризують стан окремих клітин (якість і склад пігментних систем), то зазначений метод може бути використаний для експрес-оцінки стану популяції на дію токсиканту. Більш тонка оцінка субпопуляційних ефектів потребує калібровки методу – співвідношення інтенсивності флуоресценції до кількості клітин – та додаткового мікроскопічного аналізу. Про кількість живих клітин можна судити за величиною піку в області 680 нм, коли спостерігається флуоресценція тільки метаболічно активних клітин. Мертві та неактивні клітини при аналізі спектрів флуоресценції розділити практично неможливо. Аналогічні результати отримані і при аналізі спектрів пропускання досліджуваної суспензії водоростей лише за тією різницею, що метод на порядок менш чутливий і не потребує роботи з дуже густою суспензією водоростей.

Оцінка пулу фізіологічно активних клітин за допомогою електрохімічного методу також є побічною і повинна співвідноситися з кількістю клітин, імобілізованих на електроді. Метод показує

вищу частку метаболічно активних клітин. Це пов'язано з тим, що оцінюються тільки світові стадії фотосинтезу, які за дії ртуті практично не враховуються. Співвідношення величини фототоку власне водоростевих клітин, що зазнали впливу ртуті, та хлоропластів, показало, що ушкоджуюча дія виявляється, в основному, на білкових та білок-ліпідних комплексах.

Висновки

Показники, що отримані при використанні групи клітин, характерні і для кожної окремої клітини. В контексті посиленого субпопуляційного підходу до оцінки стресового впливу заслуговують належної уваги традиційні методи, зокрема, забарвлення клітин вітальними барвниками та люмінесцентна мікроскопія. Поєднання використання кількох барвників з люмінесцентним аналізом дозволяє контролювати ступінь ідентичності властивостей клітин в популяції і визначати частину клітин, які мають ці характеристики. Тонкі фізико-хімічні методи доцільно використовувати для вирішення питань, пов'язаних з з'ясуванням механізмів взаємодії токсичних речовин і рослинних клітин.

1. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки / В.Я. Александров. – Л.: Наука, 1985. – 317 с.
2. Гаузе Г.Ф. Об обратимости зависимости между приобретенными и врожденными свойствами организмов / Гаузе Г.Ф., Алпатов В.В. // ДАН СССР. – 1941. – Т. 30, № 3. – С. 252–255.
3. Граменицкий Е.М. Прижизненная окраска клеток и тканей / Е.М. Граменицкий. – М.: Медгиз, 1963. – 149 с.
4. Дрегольская И.Н. Зависимость реакций на повышение температуры среды от исходного уровня теплоустойчивости особей одного генотипа / И.Н. Дрегольская // Изв. АН СССР. Сер. биол. – 1987. – № 2. – С. 251–258.
5. Летунова С.В. Геохимическая экология микроорганизмов / Летунова С.В., Ковальский В.В.. – М.: Наука, 1978. – С.146.
6. Роскин Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин. – М.: Сов. Наука, 1951. – 120 с.
7. Скрипник И.А. Физиологическое состояние водорослей при ртутном загрязнении / И.А. Скрипник, С.А. Саркисова, Н.И. Рясинцева // Эксперим. водная токсикология. – 1982. – Вып. 2. – С. 67–82.
8. Ушаков Б.Л. Физиологическая структура популяции, возникающая в процессе термального отбора / Б.Л. Ушаков // Генетика. – 1982. – Т. XVIII, № 5. – С. 232–240.
9. Ушаков Б.Л. Эволюционное значение температурных адаптаций животных / Б.Л. Ушаков // Усп. совр. биол. – 1982. – Т. 93, № 2. – С. 302.
10. Gallagher G.C. Patterns of cell viability in the diatom *Skeletonema costatum* in batch culture and in natural population / G.C. Gallagher // Estuaries. – 1984. – Vol. 7, N 1. – P. 109–118.
11. Tarasevich M.R. Photoresponse of native photosynthetic system and chlorophyll-containing films on metal electrodes / Tarasevich M.R., Chanova L.A. // J. Electroanal. Chem. – 1987. – N 228. – P. 109–118.

И.О. Скрипник, О.В. Кирсанова

Одесский филиал Института биологии южных морей НАН Украины

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В КУЛЬТУРЕ

Проведено сравнительное изучение применения разных методов для оценки воздействия токсиканта на клетки микроводорослей с разным физиологическим статусом. Установлено, что при расшифровке механизмов воздействия токсиканта на клетку целесообразно применение электрохимических методов контроля жизнедеятельности водорослевых клеток.

Ключевые слова: микроводоросли, токсиканты, методы

I.O. Skripnik, O.V. Kirsanova

Odesa Branch A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas NAS of Ukraine

METHODICAL ASPECTS OF STUDY OF POPULATION OF MICROALGAE ARE IN CULTURE

Methods of estimation of toxic agents on cells of microalgae with different physiological state were studied There was noticed that during studies on mechanism of toxic agents action electrochemical methods use is possible.

Key words: microalgae, toxic agents, methods