

УСТОЙЧИВОСТЬ ПОЧВЕННОЙ ВОДОРΟΣЛИ *EUSTIGMATOS MAGNUS* (B.PETERSEN) HIBBERD (EUSTIGMATOPHYTA) К ДЕЙСТВИЮ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

© 2011 Л.М. Сафиуллина

ГОУ ВПО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы», г. Уфа

Поступила 03.07.2011

Описано влияние высоких температур на почвенную водоросль *Eustigmatos magnus* (B.Petersen) Hibberd (Eustigmatophyta). Установлены границы сохранения морфологического статуса водоросли, описаны нарушения морфометрических признаков клеток. Отмечено влияние 50°C на процесс размножения водоросли.

Ключевые слова: *Eustigmatophyta*, температура, устойчивость, морфология, зооспорообразование.

Температура – важный экологический фактор, который влияет на жизнедеятельность почвенных водорослей и который, в отличие от других элементов среды, невозможно исключить из окружения организмов. Известно, что физико-химические процессы биологических систем в разной степени зависят от температуры. Поэтому даже незначительные изменения температурного фактора приводят к изменению скорости метаболических реакций и общей интенсивности обмена. Среди водорослей имеются эвритермные виды, способные переносить большие колебания температуры, например диатомея *Nitzschia putrida*, температурный режим которой равен 42⁰ (от –11 до +30⁰). Другие водоросли stenothermy и развиваются в узком диапазоне температур. Например, бурая водоросль *Phaeocystis poucheti* диапазон которой равен 10,6⁰ (от –1⁰ до +11,6⁰). Однако водоросли приспособились к широкому температурному диапазону, в пределах которого возможен их рост и размножение [1]. В литературе имеются многочисленные данные, подтверждающие их термоустойчивость [2-6].

Верхние пределы для эукариотических водорослей ниже, чем для эукариотических микроорганизмов, но выше чем для многоклеточных животных и высших растений и примерно равны 55-60°C [7]. Однако точные значения верхних температурных пределов для почвенных водорослей определить нельзя в связи с недостатком данных.

Известно, что клетки водорослей способны адекватно настраивать свою теплоустойчивость в ответ на изменение температуры среды (температурная «настройка») [1]. Следовательно, водоросли не обладают постоянным уровнем температурной устойчивости и для обнаружения видовых различий в температурной устойчивости необходимо предварительно культивировать их в течение некоторого времени в одинаковых температурных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Одноклеточная водоросль *Eustigmatos magnus* (J.B Petersen) Hibberd 1981 (syn. *Pleurochloris magna* J.B Petersen 1932) имеет следующий таксономический статус: отдел Eustigmatophyta, класс Eustigmatophyceae, порядок Eustigmatales, семейство Eustigmataceae, род *Eustigmatos*. Клеточная стенка тонкая и эластичная, иногда ослизненная; у быстро увеличивающихся клеток происходит разрыв этих слизистых оболочек, клеточные стенки оголяются. Хлоропласт сильно расчлененный. Клетки 14 (-34) мкм в диаметре. Зооспоры до 12 мкм в диаметре [8].

Известно широкое распространение *E.magnus*, который был обнаружен в большинстве исследованных почв – от тундры до сероземов и песчаных и глинистых пустынных областей [9-11]. В наземных экосистемах вид обитает на поверхности и в поверхностных слоях почвы, иногда образуя массовые разрастания [12].

В почвах на территории бывшего СССР особи данного вида выявлены в 135 местообитаниях, в том числе в лесных почвах – в 75 местообитаниях [13]. Широко представлен в почвах Украины в разных природно-климатических зонах: Украинском полесье, на территории Украинских Карпат и Крыма [14].

E.magnus часто встречается в торфяно-болотных и торфяных почвах при кислых значениях pH. Так, Г.С. Антипина [15] обнаружила его в торфяных почвах осушенного мезотрофного болота с pH 3,8. Является обычным представителем почв степных и лесостепных зон [16, 14]. В альгосинузиях высокогорных пустынных сообществ Памирской подпровинции на высоте 3900-4200 м над уровнем моря входил в состав доминирующих и субдоминирующих комплексов [17]. Обнаружен на о. Шпицберген (на моховом покрове и вкраплении лугов в каменистой тундре), на нефтяных месторождениях п-ва Ямал [18].

Водоросль постоянно встречается в пахотных почвах и в почвах антропогенно-нарушенных территорий, в том числе урбанизированных, где в отдельных случаях является доминирующим видом [19-22 и др.]. В частности, по данным Г.Г. Кузяхметова и Р.Г. Минибаева [20], в

среднемощном тяжелосуглинистом выщелоченном черноземе доминировала на участках бессменного пара, занятого пара, в посевах кукурузы, яровой пшеницы, озимой ржи, на залежи.

Такой обширный ареал и частая встречаемость свидетельствуют о высокой пластичности вида к неблагоприятным условиям среды. Цель настоящей работы – выяснение степени устойчивости *E. magnus* к воздействию высоких температур.

В экспериментах использовалась альгологически чистая культура изолята *E. magnus*, который был выделен из почв Фролихинского государственного охотничьего заказника Республики Бурятия. Культуру выращивали на жидкой питательной среде Громова № 6 (состав солей (г/л воды): KNO_3 – 1,0; K_2HPO_4 – 0,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; CaCl_2 – 0,15; NaHCO_3 – 0,2; раствор микроэлементов (г/л воды): CaCl_2 – 1,2; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,22; MnSO_4 – 1,81; $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,079; $\text{NaBO}_3 \times 4\text{H}_2\text{O}$ – 2,63; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 9,3; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times \text{H}_2\text{O}$ – 0,02; ЭДТА (трилон В) – 10,0). Для выявления размерных или морфологических изменений, происходящих в клетках *E. magnus* под воздействием высоких температур, оценивали диаметр клеток, описывали морфологические нарушения, а также состояние протопласта. Во всех экспериментах использовали неклональную культуру 2-недельного календарного возраста со стартовой концентрацией 1×10^5 кл/мл, находящуюся в стационарной фазе роста.

Исследовали влияние температур от 24 до 66°C с интервалом 2°C, суспензию культуры в пробирках подвергали 20-минутной экспозиции в термостате U-2 (GDR). Просмотр проводили на 6 и 14 сут, в каждой градации фактора измеряли диаметр 50 вегетативных клеток. Изучено 2200 особей.

Достоверность результатов оценивали с использованием критерия Стьюдента. Статистическую обработку результатов проводили в программном продукте базового пакета Statistica 6.0 for Windows. При статистической обработке результатов исследований вычисляли значения средней арифметической и ее ошибки, медиану, стандартное отклонение и значение коэффициента вариации [23]. Для оценки уровня изменчивости на основании коэффициента вариации использовали шкалу А.С. Мамаева [24], согласно которой выделяли 3 уровня изменчивости, отражающие разнообразие растительных организмов: пониженный – коэффициент вариации (cv) <15 %; средний (cv =15-25 %); повышенный (cv >25 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 6 сут просмотра при 54-66°C происходило нарушение внутреннего содержимого клеток: протопласт у 50–70% отошел от клеточной стенки, отмечена грануляция (рис. 1).

Температура 52°C (рис. 2) вызывала образование очень крупных клеток (до 23,8 мкм). При 50°C наблюдался массовый выход зооспор (рис. 3). В интервале от 42 до 48°C встречались атипичные клетки (рис. 4). Температура 36-40°C приводила к расчленению хлоропласта, как у видов рода *Botrydiopsis* (рис. 5). При нагревании в интервале от 24 до 34°C морфология клеток не изменялась (рис. 6).

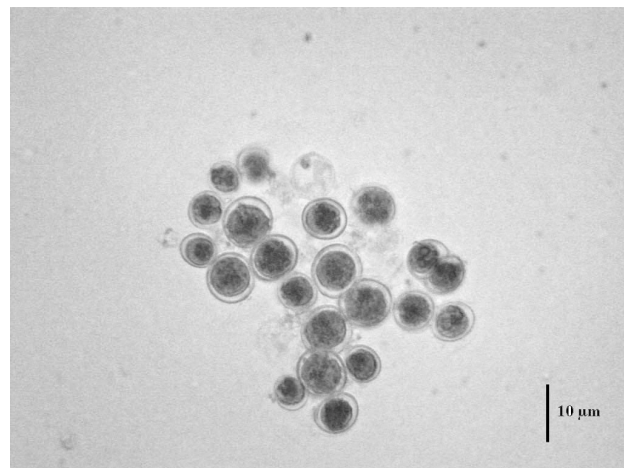


Рис. 1. Плазмолиз и грануляция в клетках *E. magnus* при 54-66°C.

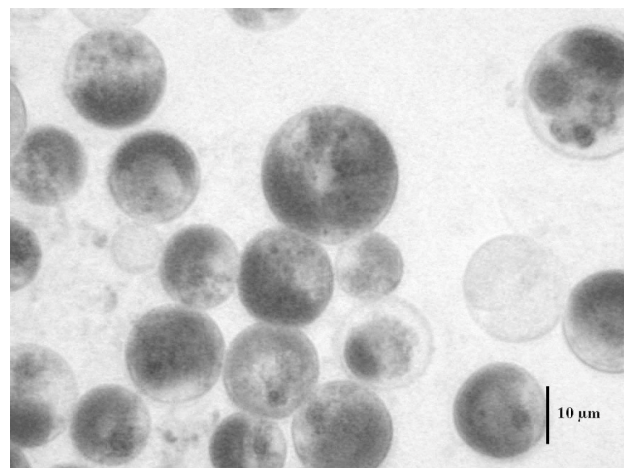


Рис. 2. Укрупнение клеток *E. magnus* в диаметре при 52°C.



Рис. 3. Зооспоры *E. magnus* при 50°C.

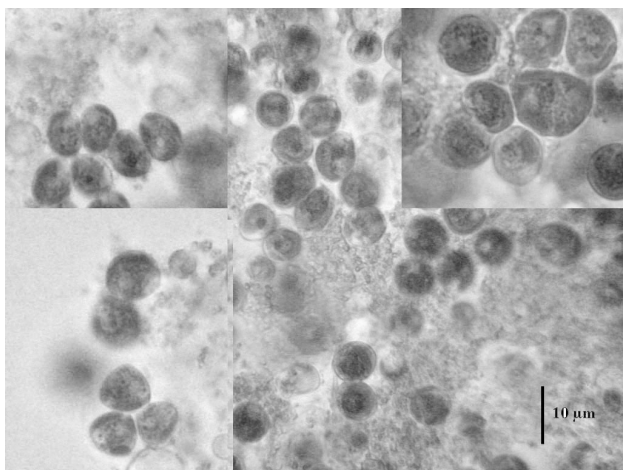


Рис. 4. Атипичные клетки *E. magnus* при 42-48°C.

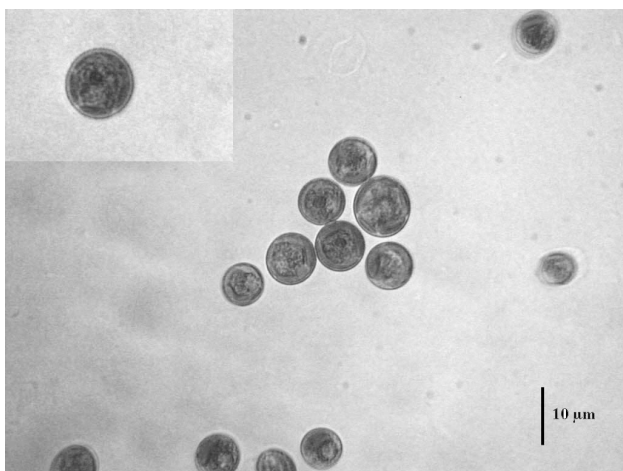


Рис. 5. Положение хлоропласта, схожее с видами рода *Botrydiopsis* при 36-40°C.

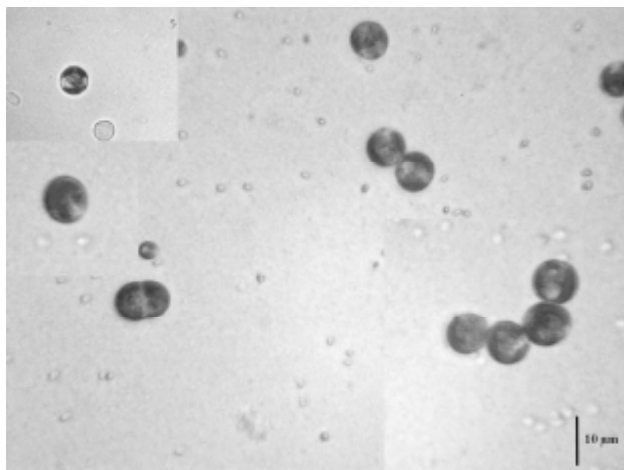


Рис. 6. Типичные клетки *E. magnus* при 24-34°C

На 14 сут наблюдали гибель клеток при 56-66°C: обесцвечивание хлоропласта наблюдалось у 90% клеток. При нагревании от 24 до 34°C морфология клеток была неизменной.

На основании значений средней арифметической диаметра клеток *E. magnus* и ее ошибки построена гистограмма влияния температуры на морфометрические показатели водоросли по двум срокам просмотра (6 и 14 сут),

где по осям откладывали размерные показатели водоросли (диаметр, мкм) и диапазон температур с интервалом в 2°C (рис. 7).

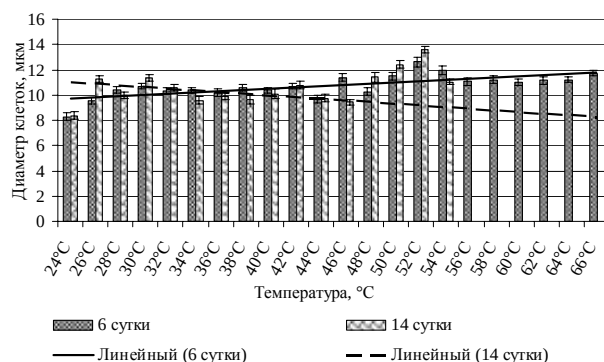


Рис. 7. Влияние температуры на диаметр клеток *E. magnus*.

На гистограмме можно наблюдать зависимость размеров диаметра клеток от определенной температуры. Так, по данным просмотра на 6 сут видно, что в целом диаметр клеток увеличивался с повышением температуры. На 14 сут при 50-52°C наблюдалось небольшое увеличение клеток.

Результаты эксперимента позволили определить границы устойчивости почвенной водоросли *E. magnus* к воздействию температуры, а также пронаблюдать происходящие при этом изменения морфологических и размерных признаков. *E. magnus* сохранял морфологический статус до 54°C включительно. Установлено влияние 50°C на процесс размножения водоросли. Температура 52°C вызывала появление очень крупных клеток водорослей.

В литературе имеются результаты [5] о влиянии температуры на *Xanthonema exile* (Xanthophyta), где отмечено, что водоросль могла выдерживать температуры до 48°C включительно. Проведенные эксперименты также продемонстрировали влияние температур на процесс зооспорообразования у *X. exile*: при температурах от 32 до 44°C наблюдалось интенсивное образование зооспор, после которого наблюдалось развитие водорослей. Влияние температуры на линейные размеры клеток установлено и для других групп водорослей. Например, А.И. Фазлутдинова [4] в эксперименте с диатомовыми водорослями отмечала, что при нагревании наблюдалось уменьшение средних значений их линейных размеров. По результатам исследований популяций почвенных Bacillariophyta автор определил предельные границы термоустойчивости: для *Hantzschia amphioxys* 50°C, для *Nitzschia palea* 40°C. В подобном эксперименте Л.Х. Зариповой [6] по воздействию на *Cylindrospermum michailovskoense* (Cyanoprokaryota) было отмечено увеличение длины вегетативных клеток, гетероцист, образование спор при 40°C. Автором отмечено, что температура 50°C и выше вызывала полное разрушение и гибель клеток.

Проанализировав данные литературы по схожим экспериментам, был выстроен ряд устойчивости, показывающий максимальную температуру, выше которой особи исследованных видов погибали: *Eustigmatos magnus* (Eustigmatophyta) (54°C) > *Hantzschia amphioxys* (Bacillariophyta) (50°C) [4] > *Xanthonema exile* (Xanthophyta) (48°C) [5] > *Cylindrospermum michailovskoëns* (Cyanoprokaryota) (40°C) [6], *Nitzschia palea* (Bacillariophyta) (40°C) [4], по которому видно, что *Eustigmatos magnus* обладает наиболее высокой устойчивостью к данному экологическому фактору.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гапачка Л.Д. Об адаптации водорослей. М.: Изд. МГУ, 1981. 80 с.
2. Watanabe M.M. et al. Purification of freshwater picoplanktonic cyanobacteria by pour-plating in "ultra-low-gelling-temperature agarose" // Phycol. Res. 1998. № 46. P. 71-75.
3. Голлербах М.М., Штина Э.А. Почвенные водоросли. Л.: Наука, 1969. 228 с.
4. Фазлутдинова А.И. Эколого-флористическая характеристика почвенных диатомовых водорослей Южного Урала: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 1999. 18 с.
5. Гайсина Л.А. Биология и экология *Xanthonema exile* (Klebs) Silva (Xanthophyceae, Chrysophyta): Автореф. дис.... канд. биол. наук. Уфа, 2000. 17 с.
6. Зарипова Л.Х. Биология и экология почвенной цианобактерии *Cylindrospermum michailovskoëns* (Cyanoprokaryota): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2009. 17 с.
7. Жизнь микробов в экстремальных условиях / под. ред. Д. Кашнера. М.: Мир, 1981. 520 с.
8. Ettl H., Gärtner G. Sullabus der Boden-, Luft- and Flechtenalgen. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, 1995. 721 p.
9. Новичкова-Иванова Л.Н. Почвенные водоросли фитоценозов Сахаро-Гобийской пустынной области. Л.: Наука, 1980. 256 с.
10. Штина Э.А., Антипина Г.С., Козловская Л.С. Альгофлора болот Карелии и ее динамика под воздействием естественных и антропогенных факторов. Л.: Наука, 1981. 269 с.
11. Гецен М.В., Стенина А.С., Патова Е.Н. Альгофлора Большеземельской тундры в условиях антропогенного воздействия. Екатеринбург: УИФ Наука, 1994. 146 с.
12. Куликова Р.М. «Цветение» торфяно-болотных почв // Почвоведение. 1965. № 2. С. 63-67.
13. Алексахина Т.И., Штина Э.А. Почвенные водоросли лесных биогеоценозов. М.: Наука, 1984. 148 с.
14. Костіков І.Ю., Романенко П.О., Демченко Е.М. и др. Водорості ґрунтів України (історія та методи дослідження, система, конспект флори). Київ, 2001. 300 с.
15. Антипина Г.С. Альгофлора болот Карелии и ее изменение под влиянием мелиорации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1979. 22 с.
16. Ливоварова Ж.Ф. Особенности водорослевых сообществ некоторых засоленных почв лесостепной зоны Барабы / Межвуз. сб. науч. трудов. Новосибирск, 1971. С. 18-24.
17. Базова Г.А. Почвенные водоросли высокогорий Памира. Душанбе: Проспект, 1978. 140 с.
18. Кабиров Р.Р., Сафиуллина Л.М. Особенности экологии и распространения одноклеточной почвенной водоросли *Eustigmatos magnus* (Eustigmatophyta) в Южном Урале (Россия) // Альгология. 2008. Т. 18. № 2. С. 134-144.
19. Кабиров Р.Р., Шилова И.И. Сообщества почвенных водорослей на территории промышленных предприятий // Экология. 1994. № 6. С. 16-20.
20. Кузяхметов Г.Г., Минибаев Р.Г. Альгокомпоненты некоторых агрофитоценозов: вопросы агрофитоценологии / Сб. науч. трудов Башкирского гос. ун-та. В. 78. № 10. Уфа: Изд. БГУ, 1994. С. 94-105.
21. Дубовик И.Е. Водоросли эродированных почв и альгологическая оценка почвозащитных мероприятий. Уфа: Изд. БГУ, 1995. 156 с.
22. Зимонина Н.М. Почвенные водоросли нефтезагрязненных земель. Киров, 1998. 170 с.
23. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
24. Мамаев С.А. О закономерностях колебания амплитуды внутривидовой изменчивости количественных признаков в популяциях высших растений // Журн. общей биологии. 1968. Т. 29. № 4. С. 44-45.

RESISTANCE OF SOIL ALGAE *EUSTIGMATOS MAGNUS* (B.PETERSEN) HIBBERD (EUSTIGMATOPHYTA) TO HIGH TEMPERATURES

© 2011 L.M. Safiullina

Bashkir State Pedagogical University named by M.Akmulla, Ufa

The effects of influence from high temperatures on the soil alga *Eustigmatos magnus* (B. Petersen) Hibberd (Eustigmatophyta) described in the article. The boundaries of preservation of the morphological status of algae was determined, distortions of morphometric features of cells was described. Temperature 50° C affect to the reproduction of algae.

Key words: Eustigmatophyta, temperature, resistance, morphology, zoospore production.