

ИНДЕКС ФОРМЫ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ КАК НОВЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ

В качестве нового морфометрического критерия предлагается безразмерный индекс, условно названный нами индексом формы (ω). Он рассчитывается путем деления «минимальной» поверхности объекта, т.е. той, которую он бы имел в форме шара при данном объеме, на реальную поверхность. Преимущество этого индекса заключается в том, что он изменяется в пределах (0, 1] и независим от размеров клеток. Индекс может быть использован как для оценки состояния сообществ, так и отдельных культур (штаммов) микроводорослей.

Гравитация в свободном космосе, где отсутствует воздействие других сил, приводит к тому, что пластичные тела приобретают шарообразную форму. Ее геометрическим свойством является минимально возможная площадь поверхности при данном объеме. На Земле шарообразная форма животных (кроме микромира) не встречается. В океане же, где сила земного притяжения компенсируется плавучестью, она возможна, если тело идеально взвешенно в воде данной плотности. В [4] говорится, что «...шарообразные организмы крупного размера не должны встречаться, по крайней мере, в мире растений, питание которых осуществляется непосредственно через внешнюю поверхность. Организмы или структуры среднего размера вероятны, а мелкие округлые должны встречаться чаще других». Это объясняется авторами значительным снижением интенсивности обмена в расчете на единицу массы шара по мере его роста.

Однако, изменчивость условий водной среды (температура, соленость, плотность, вязкость) способствовала изменению формы в процессе эволюции и возникновению адаптаций, повышающих плавучесть организмов (увеличение площади поверхности, образование выростов, соединение клеток в цепочки и т.д.). При изменении условий среды изменяется структура сообществ планктонных микроводорослей, когда преимущество получают виды определенной формы.

Мы попытались количественно оценить эти изменения с помощью некоего индекса. Таким индексом может быть степень близости определенной формы к шару (обозначим его буквой ω). Итак, коэффициент – есть отношение «минимальной» поверхности объекта, т.е. той, которую он бы имел в форме шара при данном объеме, к реальной.

$$\omega = S_1/S \quad (1),$$

где S_1 – «минимальная», S – реальная, поверхности.

Материалы и методы. Материал для исследования был собран в двух точках Севастопольской бухты в сезонных съемках 2000 - 2001 гг. с приповерхностного слоя воды. Пробы, сгущенные методом обратной фильтрации с помощью нуклеопоровых фильтров, обработаны под световым микроскопом в камере Нажжота объемом 0,2 мл при увеличении 10 x 20. Фиксацию проб, объемом 70 - 100 мл, производили раствором Люголя. Чтобы рассчитать индекс формы для зеленой микроводоросли *Dunaliella salina* из коллекции отдела биотехнологии и фиторесурсов ИнБЮМ НАНУ были измерены 100 клеток. Форму клетки аппроксимировали комбинацией фигур: $\frac{1}{2}$ вытянутого сфероид + параболоид [2].

Методика вычисления индекса ω следующая: произведя математические преобразования (подставим значение числа π и диаметр вместо радиуса, соответственно, $D = R \cdot 2$), получим измененную формулу для расчета объема шара:

$$V_{\text{шара}} = 0,5246 \cdot D^3 \quad (2),$$

$$\text{отсюда находим, что } D = V^{0,333} / 0,806 \quad (3)$$

Объем конкретного объекта мы приравниваем к объему шара. Тогда, подставляя это значение в (3) мы находим величину диаметра шара с известным объемом. Теперь остается рассчитать площадь поверхности шара («минимальную») с данным диаметром:

$$S_{\text{шара}} = 3,142 \cdot D^2 \quad (4)$$

Подставляем значения S_1 и S в формулу (1) и рассчитываем коэффициент. Обобщив все расчеты можно представить эту формулу в виде:

$$\omega = 4,836 \cdot V^{0,667} / S \quad (5)$$

Однако, расчет объемов клеток и площадей их поверхностей весьма трудоемкий процесс, и, чтобы облегчить эту процедуру, мы провели исследования зависимости индекса ω , рассчитанного по формуле (5) от пропорций клеток разных форм, встречающихся у диатомовых водорослей. Пропорции клеток выразили отношением максимального размера клетки к минимальному. Рассматривались клетки, имеющие коническую, цилиндрическую (цилиндр круговой), цилиндрическую с эллиптическим основанием и условно «сложную» формы (рис. 1).

Результаты и обсуждение. Как видно из рис. 1, уровень аппроксимации весьма высокий. Таким образом, эти уравнения можно использовать для расчетов ω , не прибегая к расчетам площади поверхности и объема клеток диатомовых водорослей. Особенно удобно это для тех случаев, когда клетка имеет сложную форму, отличную от вышеперечисленных геометрических фигур. На примере двух точек Севастопольской бухты (Черное море, в открытой части – станция Мыс, и в полузамкнутой Южной бухте) были получены статистически достоверные различия в индексе ω у всех определенных видов диатомовых и перидиниевых водорослей в среднем за год (табл. 1).

Таблица 1. Средние значения индекса формы для разных групп водорослей
Table 1. The averages of shape index for different microalgal groups

Таксон	Группы	$\omega \pm \sigma$	Кол-во измерений
Динофитовые	Панцирные	$0,92 \pm 0,016$	214
Динофитовые	Голые	$0,80 \pm 0,018$	40
Динофитовые	Все вместе	$0,90 \pm 0,014$	254
Диатомовые	Центрические	$0,73 \pm 0,009$	700
Диатомовые	Пенатные	$0,57 \pm 0,018$	313
Диатомовые	Все вместе	$0,68 \pm 0,009$	1012

Как видим, у диатомовых водорослей, в большей степени зависящих от вязкости воды, этот индекс значительно ниже, чем у перидиниевых. А среди диатомовых минимальный индекс ω отмечен у пенатных форм, среди которых преобладают вытянутые формы клеток.

Рассчитав средний для сообщества индекс ω , мы можем судить о преобладании тех или иных форм водорослей (рис. 2), что соответствует представлению о сукцессионной смене определенных групп водорослей, различающихся по размерам, форме клеток и таксономической принадлежности [3].

Значение индекса ω , рассчитанного для суммы всех видов, в среднем были выше в холодный период года, чем в теплый (рис. 2). При этом в двух точках бухты эти изменения происходили синхронно, а с апреля 2001 г. в изменении индекса отмечены противоположные тенденции. Это обусловлено разницей в гидрологическом режиме открытой части Севастопольской бухты (Мыс) и полузамкнутой, более загрязненной Южной бухты. Соответственно с этим различался и состав фитоценозов в этих точках.

На станции Мыс доминировали диатомовые водоросли, в то время как в Южной - представители золотистых и динофитовых водорослей.

Проиллюстрируем изменение индекса, рассчитанного для одного вида водорослей (рис. 3). Для примера мы взяли диатомовую водоросль *Cerataulina pelagica* (Cleve) Hendeу (в открытой части Севастопольской бухты), которая обуславливала «вспышки» биомассы в осенний период года.

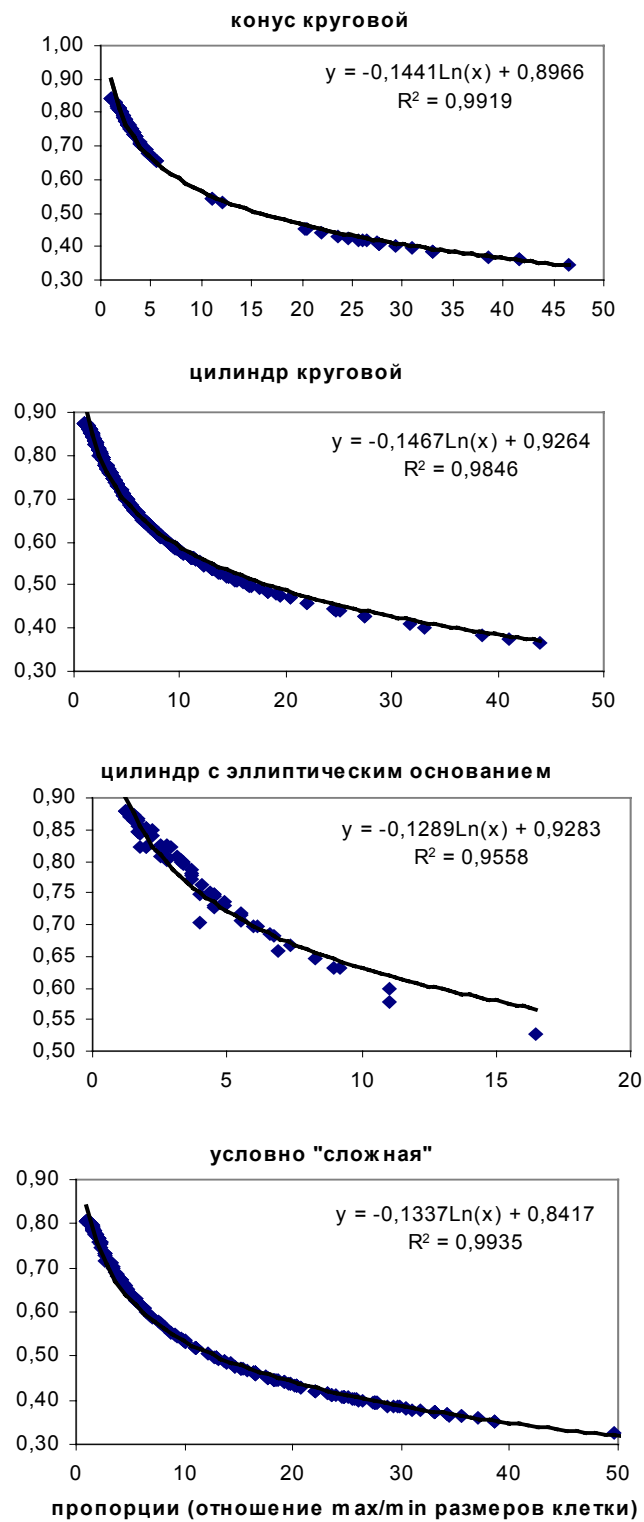


Рисунок 1. Зависимость индекса ϕ от пропорций клеток разной формы диатомовых водорослей (на примере Севастопольской бухты); Figure 1. Relationship between shape index and the proportions of cell shape in different diatoms (Sevastopol Bay)

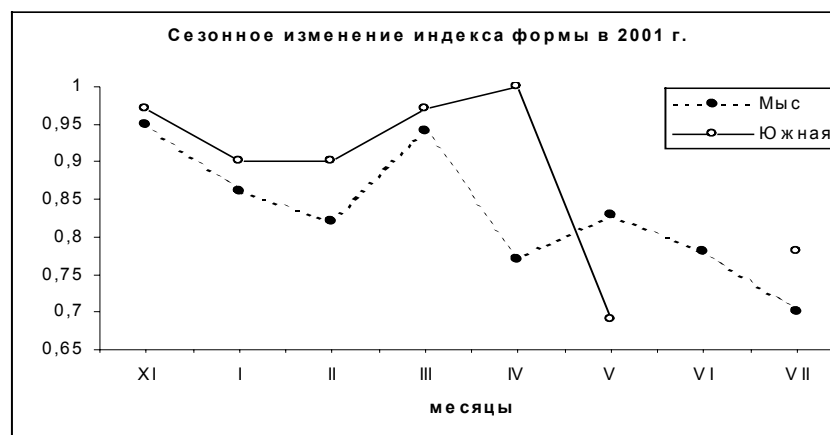


Рисунок 2. Сезонное изменение индекса формы фитопланктона на двух станциях в Севастопольской бухте

Figure 2. The seasonal change of shape index found in phytoplankton from two stations in Sevastopol Bay

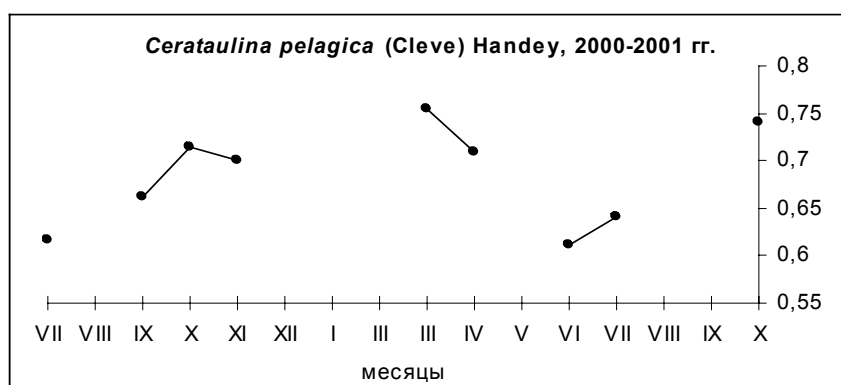


Рисунок 3. Сезонное изменение индекса формы у диатомовой водоросли *Cerataulina pelagica* (Bacillariophyceae) на станции Мыс в Севастопольской бухте (2000-2001 гг.)

Figure 3. The seasonal change of shape index in the diatom, *Cerataulina pelagica* (Bacillariophyceae) from the Cape station during 2000-2001. (Sevastopol Bay)

В соответствии с сезонным ходом температуры воды, индекс достигал максимума в холодное время и был минимальным в теплое, т.е. в условиях дефицита биогенов и неблагоприятных для плавучести (высокая температура, пониженная вязкость) снижается скорость деления клеток диатомовых водорослей. В результате, среди представителей этого вида преобладают относительно крупные формы и чаще встречаются клетки, в наименьшей степени приближенные к форме шара (более вытянутые). На этих примерах мы видим, что предложенный индекс отражает изменение структуры фитоценозов и даже отдельных видов, у которых наблюдается сезонное изменение пропорций клеток. Следовательно, его можно использовать и как

показатель изменений в состоянии экосистем под воздействием различных факторов среды.

Микроводоросль *Dunaliella salina* (Dunal.) Teod. – удобный объект для биотехнологических исследований. Отсутствие клеточной оболочки обуславливают непосредственный отклик клетки на воздействие различных факторов. Благодаря быстрой реакции на токсичные вещества, проявляющиеся в изменении морфологии клетки и ее двигательной активности, этот вид можно использовать в качестве тест-систем для экспресс-оценки при экологическом мониторинге и в медицинской практике [1].

Исследования, проводимые в Харьковском национальном университете, показали ответную реакцию клеток *Dunaliella* на внесение сыворотки крови больных миастенией.[1]. Однако изменение формы клеток авторы определяли по изменению линейных размеров и площади поверхности клеток, что не позволяет сделать статистически значимую количественную оценку изменчивости самой формы. Использование индекса формы, предложенного нами, позволило бы решить эту методическую проблему.

С этой точки зрения актуальным для дальнейших исследований вариабельности формы клеток является расчет индекса формы *D. salina* из коллекции ИнБЮМ НАН Украины. Получены следующие значения: минимальное - 0,864, максимальное – 0,957, в среднем - $0,903 \pm 0,004$ (при уровне достоверности 0,01). Как видим, диапазон изменчивости формы очень узкий, притом, что разница в объеме достигала 4 раз, а площади поверхности – в 2,5 раза. Зная диапазон вариабельности клеток в норме можно сопоставлять их со значениями, полученными в экспериментальных условиях.

Выводы: 1. Преимущества коэффициента, по сравнению, например, с удельной поверхностью, заключается в том, что он изменяется в пределах от нуля до единицы и не зависит от размеров клеток. 2. Индекс формы может быть использован для экспресс-оценки состояния фитоценозов и сопоставления их в пространственно-временных масштабах, а также для определения вариабельности штаммов микроводорослей в биотехнологических исследованиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов INTAS № 01-0788 и № 03-51-6196

1. Александрова Д., Белкин Е., Кравцов П. И. Разработка автоматизированной системы оценки реакции *Dunaliella viridis* Teod. на цитотоксические соединения // Актуальные проблемы современной альгологии: Мат. III Междунар. конф. Харьков 20 - 23 апр. 2005. – Харьков, 2005. – С. 13 - 14.
2. Брянцева Ю. В., Лях А. М., Сергеева А. В. Расчет объемов и площадей поверхности одноклеточных водорослей Черного моря. - Севастополь, 2005. - 25 с. (Препр. / ИнБЮМ НАН Украины).
3. Виноградова Л. А. и др. Размерно-функциональные группы и схема потока вещества в планктоне Северного моря // Тр. АтлантНИРО. – Калининград, 1979. – Вып. 78. – С. 3 – 16.
4. Хайлов К. М., Празукин А. В., Ковардаков С. А. и др. Функциональная морфология морских одноклеточных водорослей. – Киев: Наук. думка, 1992. – С. 40.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 01.05.2005

Yu. V. BRYANTCEVA

SHAPE INDEX OF UNICELLULAR MICROALGAE AS A NEW MORPHOMETRIC CRITERION

Summary

A dimensionless index, named shape index (ω), is proposed as a new morphometric criterion. The index is calculated through dividing the conventionally shaped into a sphere under the actual cell volume by the actual surface area. Advantages of proposed index are it varies within (0.1] and does not depend upon cells size. Shape index can use for assessment of the condition of microalgal community or a culture.