

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ РАЗМЕРОВ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ ДИАТОМЕЙ

Определенна гетерогенность размерного спектра клеток культур *Ditylum brightwellii*, *Thalassiosira parva*, выращенных при одинаковых условиях освещенности, и *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros affinis*, адаптированных к её различным условиям. У *D. brightwellii* и *Th. parva* коэффициент вариабельности составил 26 и 22% соответственно. Гетерогенность размерного состава клеток, адаптированных к различным световым условиям, варьировала от 20 до 30%. Установлено, что высокая интенсивность света приводит к увеличению размеров исследуемых видов диатомовых.

Изменение размеров клеток водорослей имеет большое значение как фактор приспособления фитопланктона к воздействию внешних условий. Физиологическая активность водорослей, скорость роста, интенсивность выедания фитопланктона зоопланктоном зависят от размерного спектра клеток [9].

С увеличением размеров клеток уменьшается отношение площади поверхности клетки к её объёму, что приводит к самозатенению пигментов и снижению эффективности поглощения световой энергии. Исследования показали, что многие фотосинтетические параметры зависят от объёма клетки [7]. Теоретические [12, 17] и экспериментальные [9, 16] исследования выявили, что размер клеток влияет на такой фундаментальный показатель как поглощения света водорослями.

Вариабельность размерных характеристик фитопланктона зависит от температуры, освещенности, содержания биогенных элементов в водной среде [8]. В ряду этих факторов первостепенное значение имеет освещенность, которая может изменять размеры клеток микроводорослей в несколько раз.

Цель исследования: определить гетерогенность размерного состава клеток водорослей при одинаковых и различных световых условиях.

Материал и методы. Объектом исследования служили диатомовые водоросли *Ditylum brightwellii* Grunow in Van Heurk, 1883, *Thalassiosira parva* Pr.-Lavr., 1955 (выращенные при одинаковых условиях $t=18^\circ$ и $E=51,6 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ для *D. brightwellii*; $t=17^\circ$ и $E=46,44 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ для *Th. parva*). *Skeletonema costatum* P.T. Cleve, 1878 и *Chaetoceros affinis* Lauder, 1864 (адаптированных к различным интенсивностям света $E_1=43 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, $E_2=206,4 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$), взятые из коллекции отдела экологической физиологии водорослей Института биологии южных морей НАН Украины, выращенные на среде f/2 [14] при естественном освещении. В опытах водоросли освещали люминесцентными лампами (Philips TLRS 20W/54765) холодного свечения непрерывно в течение 3 – 6 сут (пока культура находилась в экспоненциальной фазе роста). Освещенность измеряли люксметром Ю-116. Для перевода освещенности в энергетические единицы принимали, что $1 \text{ клк} = 17,2 \text{ мкЕ м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ [4].

Численность клеток измеряли методом прямого счёта в 0,05 и 0,02 мл. Размеры водорослей определяли для 100 – 300 клеток. Для оценки достоверности различий между сравниваемыми группами использовали критерий F , представляющий собой отношение квадратов средних квадратических отклонений:

$$F = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}, \quad (1.1)$$

где σ_1^2 и σ_2^2 - квадраты средних квадратических отклонений. При F , не равном единице, полученное значение сравнивается с $F_{\text{фак}}$, которое приведено в специальных

таблицах [5]. Уровень значимости (P) для соответствующих расчетов принят равным 0,05.

Результаты. У культуры *D. brightwellii*, адаптированной к одинаковым условиям среды (табл. 1), высота клеток (H) варьировала от 34,5 до 184 мкм, в среднем – 100 ± 29 мкм. Диаметр клеток (D) практически не изменялся и составлял 46 – 59 мкм, средний диаметр – $56,6 \pm 2,3$ мкм. Культура была представлена делящимися и поделившимися клетками, а также клетками разных возрастных категорий, что и определяло вариабельность размерного спектра клеток. В течение опыта средний коэффициент вариации длины клеток составил 26% (табл. 1). Таким образом, длина и объём клеток *D. brightwellii*, выращенных при одинаковых условиях, варьируют в пределах 5 раз.

Таблица 1. Геометрические параметры клеток *Ditylum brightwellii* и *Thalassiosira parva*, выращенных при одинаковых условиях (H, D, V – средние значения высоты клеток, диаметра и объёма клеток, SD – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации)
Table 1. The geometrical parameter of the cells *Ditylum brightwellii* and *Thalassiosira parva*, which at the same conditions (H, D, V – mean value of the height, diameter and volume, SD – standard deviation, CV – coefficient of variation)

Виды	Сутки	H, мкм $\pm$ SD	CV, %	D, мкм $\pm$ SD	CV, %	V, мкм ³ $\pm$ SD	CV, %
<i>Ditylum brightwellii</i>	1	$92 \pm 32,4$	35,1	$56,7 \pm 1,4$	2,5	$152 \cdot 10^3 \pm 17 \cdot 10^3$	11,3
	2	$112 \pm 16,7$	14,9	$57,5 \pm 1,4$	2,4	$200 \cdot 10^3 \pm 32 \cdot 10^3$	16,2
	3	$103 \pm 30,1$	29,3	$57,1 \pm 2,6$	4,6	$173 \cdot 10^3 \pm 17 \cdot 10^3$	9,7
	4	$102 \pm 27,2$	26,6	$56 \pm 3,4$	6,1	$168 \cdot 10^3 \pm 17 \cdot 10^3$	10,1
	5	92 ± 31	33,6	$56,3 \pm 2,6$	4,4	$151 \cdot 10^3 \pm 54 \cdot 10^3$	35,7
	6	$99 \pm 36,7$	37,2	$56 \pm 2,4$	4,3	$157 \cdot 10^3 \pm 18 \cdot 10^3$	11,3
<i>Thalassiosira parva</i>	1	$34,5 \pm 2,1$	6,1	$30,3 \pm 6,5$	21,5	$88 \cdot 10^2 \pm 31 \cdot 10^2$	34,8
	2	$32,7 \pm 3,3$	3,3	$28,8 \pm 6,16$	21,4	$76 \cdot 10^2 \pm 30 \cdot 10^2$	39,6
	3	$33,5 \pm 2,6$	7,8	$27,7 \pm 11,4$	21,2	$81 \cdot 10^2 \pm 16 \cdot 10^2$	18,9

У *Th. parva* значения показателей высоты и диаметра, в отличие от того, что мы наблюдали у *D. brightwellii*, сильно не варьировали. Высота колебалась от 24,2 до 46 мкм (в среднем составила $33,6 \pm 4$ мкм), диаметр клеток – от 27,6 до 34,5 мкм (средний – $28,9 \pm 8$ мкм). Коэффициент вариации по длине не превышал 6%, по диаметру – 22% (табл. 2). Таким образом, мы наблюдаем невысокую степень гетерогенности данной культуры по диаметру клеток, от изменения которого в основном зависит объём клеток *Th. parva*.

У культуры *Ch. affinis*, адаптированной к низкой и высокой интенсивностям света (табл. 1), изменялись длина и ширина клеток. При низкой интенсивности света высота менялась от 1,74 до 45,8 мкм, а при высокой – от 11,6 до 46,5 мкм. Величины диаметра клеток при низкой освещённости варьировали приблизительно в 5 раз ($5,8 - 30,7$ мкм), при высокой – в 3 раза ($11,6 - 36,5$ мкм). Средняя длина клеток при низкой освещённости составила $21,1 \pm 5,8$ мкм, диаметр – $9,5 \pm 3,8$ мкм; при высокой освещённости – $26,5 \pm 6,8$ мкм, и $21,5 \pm 3,6$ мкм соответственно. Гетерогенность объёма клеток этого вида микроводорослей зависела от длины и от ширины клеток. Коэффициент вариации по высоте клеток при низкой освещённости составил 29%, при высокой – 26%, коэффициент вариации по диаметру клеток – 20 и 15% соответственно. Как видно, коэффициенты вариации по длине и ширине клеток, как при низкой, так и при высокой освещённости, отличаются незначительно. Однако средний размер клеток, адаптированных к высокой интенсивности света, выше, чем у клеток, которые были адаптированы к низкой освещённости (табл. 2).

Таблица 2. Геометрические параметры клеток *Chaetoceros affinis* и *Skeletonema costatum*, адаптированных к различным условиям освещения (H, D, V – средние значения высоты клеток, диаметра и объёма клеток, SD – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации)

Table 2. The geometrical parameter of the cells *Chaetoceros affinis* and *Skeletonema costatum*, cultivated at the different light conditions (H, D, V – mean value of the height, diameter and volume, SD – standard deviation, CV – coefficient of variation)

Виды	Сут.	E, $\text{мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$	H, мкм $\pm \text{SD}$	CV, %	D, мкм $\pm \text{SD}$	CV, %	V, мкм ³ $\pm \text{SD}$	CV, %
<i>Ch. affinis</i>	1	43	18,6 $\pm$ 5,6	30,1	20,9 $\pm$ 2,8	13,4	5 $\cdot$ 10 ³ $\pm$ 3 $\cdot$ 10 ³	51,1
		206,4	22,2 $\pm$ 7,4	33,3	20,2 $\pm$ 2,8	13,9	5 $\cdot$ 10 ³ $\pm$ 3 $\cdot$ 10 ³	50,2
	2	43	19,6 $\pm$ 6,5	33,2	18 $\pm$ 5,3	29,4	5 $\cdot$ 10 ³ $\pm$ 4 $\cdot$ 10 ³	76,5
		206,4	29,7 $\pm$ 7,3	24,6	23,5 $\pm$ 4,5	19,2	9 $\cdot$ 10 ³ $\pm$ 5 $\cdot$ 10 ³	47,8
	3	43	25,2 $\pm$ 5,3	21	19,6 $\pm$ 3,4	17,4	6 $\cdot$ 10 ³ $\pm$ 3 $\cdot$ 10 ³	46,8
		206,4	27,7 $\pm$ 5,6	20,2	20,9 $\pm$ 3,4	16,3	7 $\cdot$ 10 ³ $\pm$ 3 $\cdot$ 10 ³	42,1
<i>Sk. co-statum</i>	1	43	11,9 $\pm$ 4,1	34,5	-	-	308,2 $\pm$ 109,5	35,5
		206,4	12,9 $\pm$ 3,7	28,7	-	-	341 $\pm$ 97,1	28,5
	2	43	12,9 $\pm$ 4,3	33,3	-	-	341,1 $\pm$ 114	33,4
		206,4	17,2 $\pm$ 4,8	27,9	-	-	454,1 $\pm$ 127,8	28,1
	3	43	18,8 $\pm$ 4,3	22,9	-	-	496,1 $\pm$ 114	23
		206,4	17,5 $\pm$ 4,9	28	-	-	462,7 $\pm$ 129,5	28

При низкой интенсивности освещённости на первые и вторые сутки эксперимента клетки с размерами менее 20 мкм составили более 50% их общего количества в культуре данного вида. При высокой же интенсивности клетки размером менее 20 мкм преобладали на первые сутки эксперимента (рис. 1). Культура водорослей состояла из двух размерных групп клеток (< 20 и > 20 мкм – для длины и диаметра и < 7 $\cdot$ 10³ и > 7 $\cdot$ 10³ мкм³ – для объёма клеток), которые при уровне значимости 0,05 достоверно отличались друг от друга. Таким образом, в течение эксперимента наблюдалась гетерогенность в размерах и объёме клеток при различной степени освещённости.

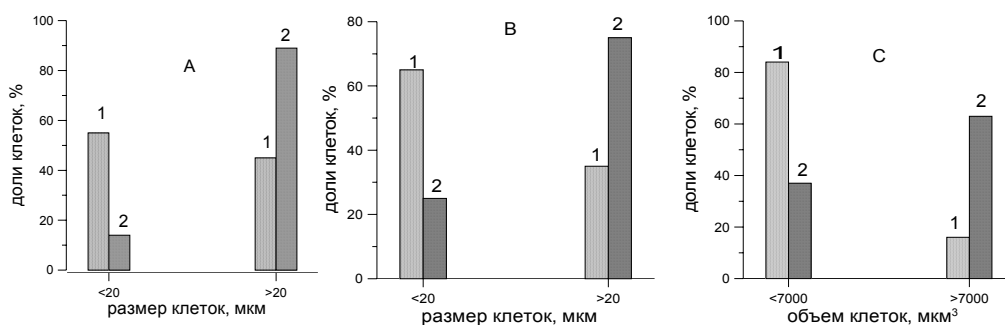


Рисунок 1. Частота встречаемости двух различных групп клеток в культуре *Chaetoceros affinis*, адаптированной к низкой (1) и высокой (2) освещённостям по высоте (A), диаметру (B), объёму (C) во вторые сутки эксперимента

Figure 1. The frequency of two different cells groups adapted to low (1) and high (2) irradianations on length (A), width (B), volume (C) of *Chaetoceros affinis* in the second day of experiment

У *Sk. costatum* в течении эксперимента мы наблюдали вариабельность размерного спектра клеток при низкой и высокой интенсивностях света только по высоте клеток. Средний размер высоты клеток при низкой освещённости составил $14,5 \pm 4,2$ мкм, при высокой освещённости - $17 \pm 4,5$ мкм. Коэффициент вариации в среднем составил 31 и 29% при низкой и высокой освещённости соответственно. Средние размеры клеток, адаптированных к высокой и низкой интенсивностям света, достоверно отличались, при уровне значимости 0,05.

Культура водорослей состояла из двух размерных групп клеток. При низкой и высокой интенсивностях света на первые сутки эксперимента наибольшую долю составили клетки менее 12 мкм. На вторые сутки при высокой интенсивности преобладали клетки свыше 12 мкм, а при низкой – менее 12 мкм (рис. 2). Ещё через сутки при низкой и высокой интенсивностях света преобладали клетки размерами свыше 12 мкм. Выделенные размерные группы водорослей по статистическим расчетам, при $P = 0,05$, достоверно отличались друг от друга.

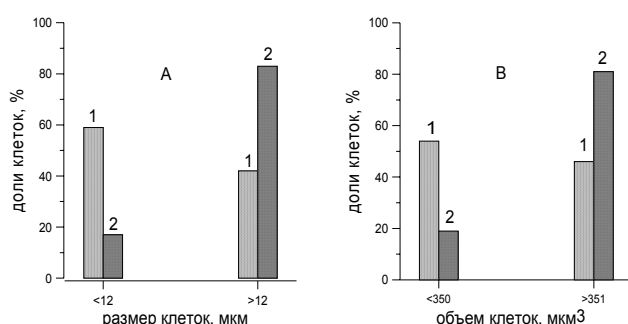


Рисунок 2. Частота встречаемости двух групп клеток в культуре *Skeletonema costatum*, адаптированной к низкой (1) и высокой (2) освещенности по высоте (A) и по объему (B) во второй день эксперимента

Figure 2. The frequency of two cells groups adapted to low (1) and high (2) irradiances on length (A) , volume (B) of *Skeletonema costatum* in second day

Обсуждение. В ряду факторов [2], влияющих на физиологическое состояние водорослей, первостепенное значение имеет видимый свет. С одной стороны, свет регулирует скорость роста водорослей и их интенсивность фотосинтеза, с другой, свет высокой интенсивности может вызывать фотоокислительный стресс, приводить к фотоингибированию, деструкции фотосинтетических пигментов и гибели клеток [8, 10]. В культурах диатомовых водорослей обычно численность достигает максимального значения при относительно слабой освещённости, порядка 1000 – 2000 лк ($17,2 - 51,6$ мкЕ $\text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) [1].

В результате серии экспериментов установлено, что клетки видов, адаптированных к низкой интенсивности света медленнее увеличивали свои размеры, чем клетки адаптированные к высокой интенсивности, однако высокая освещённость оказалось более губительной для исследуемых видов диатомовых. Быстрое увеличение размеров клеток при высоком свете, возможно, связано с тем, что скорость процессов жизнедеятельности клетки там протекает быстрее, чем при низком свете.

Средние объёмы клеток водорослей (*D. Brightwellii*, *Th. parva*), выращенных при одинаковых условиях среды, практически не изменялись [7, 9], вариабельность по размерам в среднем составила 20 %.

Размерный спектр клеток *Ch. affinis*, различался только на вторые сутки эксперимента: размеры клеток, выращенных при высокой интенсивности света, были в два раза больше, чем при низкой интенсивности света. Это может объясняться тем, что при высокой освещённости клетки некоторых видов диатомовых быстрее достигают своих максимальных размеров, но уже на третьи сутки высокая интенсивность света стала для клеток губительной. Аналогичную ситуацию мы наблюдали у *Sk. costatum*. Это связано с тем, что свет высокой интенсивности угнетает рост популяций диатомовых водорослей и приводит к снижению эффективности утилизации поглощённой пигментным аппаратом энергии [13, 15]. При длительных воздействиях света высокой интенсивности возрастает время жизни возбужденных состояний хлорофилла и увеличивается скорость

генерации активированных форм кислорода, что, в свою очередь, вызывает угнетение процессов фотосинтеза и, возможно, гибель организма [9, 10].

Размеры клеток *Ch. affinis*, адаптированных к двум различным величинам освещенности, различались по длине и по высоте, тогда как у *Sk. costatum* в аналогичных условиях варьировала только длина. Вариабельность размерных характеристик исследуемых видов может быть связана еще с тем, что клетки были представлены разными возрастными категориями: в культурах присутствовали, как делящиеся, так уже и поделившиеся клетки [10]. Также известно, что для диатомей характерна сформировавшаяся ауксоспора, которая трансформируется в новую вегетативную клетку, называемую инициальной. Ее размер в 2 — 3 раза и более превосходит размер материнских клеток [6, 12]. Линейный размер инициальных клеток (диаметр и апикальная длина створки) в пределах одного вида может варьировать значительно [3, 11]. Можно, предположить, что и это обуславливает высокую степень гетерогенности некоторых видов диатомовых водорослей.

Выводы. 1. Гетерогенность размерного состава *D. brigtwelii* и *Th. parva*, выращенных при одинаковых условиях, находился в пределах 22 - 26%. У *D. brigtwelii* вариабельность размерного спектра определялась изменениями длины клеток, тогда как гетерогенность размерного спектра *Th. parva* — диаметром. **2.** Степень гетерогенности размерного спектра у *Ch. affinis* и *Sk. costatum*, адаптированных к различным условиям освещения, была незначительно выше, чем при низкой интенсивности света. Для *Ch. affinis* коэффициент вариации составила 29% по длине и 20% по ширине, для *Sk. costatum* — 31% по длине клеток. Высокая интенсивность света приводит к увеличению размеров этих диатомовых водорослей.

1. Берсенева Г. П., Сергеева Л. М., Финенко З. З. Адаптация морских планктонных водорослей к свету // Океанология. — 1978. — **18**, №2. — С. 298-306.
2. Вассер С. П., Кондратьева Н. В., Масюк Н. П. Водоросли. Справочник. — К.: Наук. думка, 1989. — 608 с.
3. Давыдович Н. А. Факторы, определяющие размер инициальных клеток у диатомовых водорослей // Физиология растений. — 1994. — **41**, №2. — С. 250-255.
4. Парсонс Т. Р., Такахаши М., Харгрейв Б. Биологическая океанография. — М.: Легкая промышленность, 1982. — 432 с.
5. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Высш. школа, 1964. — 328 с.
6. Роулин А. М. Жизненные циклы диатомовых водорослей. — К.: Наук. думка, 1994. — С. 170.
7. Banse K. Cell volumes, maximal growth rates of unicellular algae and ciliates, and the role of ciliates in the marine pelagial // Limnol. Oceanogr. — 1982. — **12**. — P.1059–1071.
8. Brown T. E., Richardson F. L. The effect of growth environment on the physiology of algae: light intensity // J. Phycol. — 1968. — **4**. — P. 38-54.
9. Chisholm S. W. Phytoplankton size. — N.Y: Plenum Press, 1992. — P. 213-237
10. Cosper E. Effects of variation in light intensity on the efficiency of growth of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) in a cyclostat // J. Phycol. — 1982. — **18**. — P. 360-368.
11. Costello J. C., Chisholm S. W. The influence of cell size on the growth rate of *Thalassiosira weissflogii* // J. Plank. Res. — 1981. — **3**, №3. — P. 415-419
12. Drebes G. The Biology of Diatoms. — Oxford: Blackwell, 1977. — P. 250-283.
13. Geider R. J., Platt T., Raven J. A. Size dependence of growth and photosynthesis in diatom: A synthesis // Mar. Ecol. Prog. Ser. — 1986. — **30**. — P. 93-104.
14. Guillard R. R. L., Ryther J. H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* and *Detomula confervacea* // Can. J. Microbiol. — 1962. — **8**. — P. 229-239.
15. Kirk J. T. O. Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. — 509 p.
16. Nagai S., Imai I. The effect of irradiance and irradiation time on the size of initial cells in vegetation cell enlargement of *Coscinodiscus wailesii* in culture // Phycological Research. — 1997. — **45**. — P. 117 – 121.

17. Sathyendranath S., Platt T., Stuart V., Irwin B. D., Veldhuis M. J. W., Kraay G. W., Harrison W. G. Some biooptical characteristics of phytoplankton in the NW Indian Ocean // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 1996. – **132**. – P. 299–311.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
Севастополь, Украина

Получено 21 октября 2009 г.

К. С. СОЛОМОНОВА

ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ РОЗМІРІВ У ДЕЯКИХ ЧОРНОМОРСЬКИХ ВИДІВ ДІАТОМОВИХ

Резюме

Визначена гетерогенність розмірного спектру клітин культур *Ditylum brightwellii*, *Thalassiosira parva*, що вирощені при однакових умовах освітленості, та *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros affinis*, що адаптовані до різних умов освітленості. У *D. brightwellii* та *Th. parva* коефіцієнт варіабельності складав 26 та 22% відповідно. Гетерогенність розмірного складу клітин, що адаптовані до різних світлових умов варіювала від 20 до 30%. Встановлено, що висока інтенсивність світла призводить до зростання розмірів клітин деяких діатомових.

K. S. SOLOMONOVA

THE SIZE VARIABILITY OF SOME BLACK SEA DIATOM SPECIES

Summary

The heterogeneity of cell size spectrum of the culture *Ditylum brightwellii*, *Thalassiosira parva*, which were cultivated at the same conditions and *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros affinis*, which were adapted to the different light conditions was determined. The coefficient of variation of *D. brightwellii* и *Th. parva* was 26 and 22 % percent, respectively. The heterogeneity of cell sizes of cultures adapted to different light conditions was varied from 20 to 30% percent, on average. It was established, that light intensity lead to grow in sizes of some diatom species, but the coefficient of variation at high light is smaller.