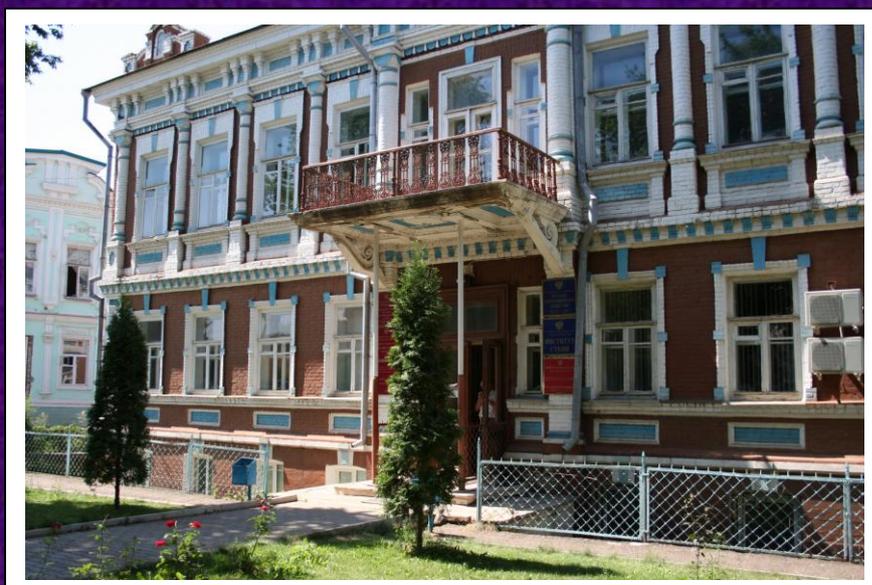


ISSN 2304-9081

**Учредители:**  
Уральское отделение РАН  
Оренбургский научный центр УрО РАН

**Бюллетень**  
**Оренбургского научного центра**  
**УрО РАН**  
(электронный журнал)



**2012 \* № 1**

On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2012

УДК 582.26:577.475

*Н. В. Немцева, М.Е. Игнатенко, А.О. Плотников, С.В. Шабанов*

## **ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ФИТОПЛАНКТОНА ОТКРЫТЫХ ВОДОЕМОВ**

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

В полевых и экспериментальных исследованиях выявлены особенности развития фитопланктона в различных экологических условиях. Антилизосимная активность водорослей, рассматриваемая как фактор их выживания, способствует их широкому распространению в пресных экосистемах, тогда как по мере увеличения солености воды их доля убывает. Наличие антилизосимной активности наблюдается среди широкого круга зеленых и синезеленых водорослей. Экспрессивность этого признака определяется физико-химическими параметрами среды (температура, минерализация, рН, антропогенное загрязнение).

Показано, что антилизосимный фактор является одним из приспособительных механизмов адаптации водорослей к условиям обитания и способствуют их выживанию в трофических цепях при взаимодействии с консументами (беспозвоночными), а также в результате меж- и внутривидовой конкуренции с другими водорослевыми культурами.

*Ключевые слова:* водоросли, планктон, экологические особенности, антилизосимная активность, водные биоценозы.

*N.V. Nemtseva, M.E. Ignatenko, S.A. Plotnikov, S.V. Shabanov*

## **ECOLOGICAL PECULIARITIES OF THE DEVELOPMENT OF PHYTOPLANKTON IN OPEN WATER**

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

In the field and experimental studies of peculiarities of development of phytoplankton in different ecological conditions. Antilysocyme activity water posley considered as a factor of their survival and promote their wide distribution in freshwater ecosystems, while increasing the salinity of the water, their share decreases. The presence of antilysocyme activity is observed among a wide range of green and blue-green algae. The expressiveness of this attribute is determined by the physical and chemical parameters (temperature, salinity, pH, anthropogenic pollution).

It is shown that antilysocyme factor is one of the adaptive mechanisms of algae to the habitat conditions and contribute to their survival in trophic chains in the interaction with the consuments (invertebrates), and as a result of inter - and intraspecific competition with other algae cultures.

*Key words:* algae, plankton, ecological features, antilysocyme activity, water biocenoses.

### **Введение**

Водоросли, широко распространенные в наземных экосистемах, входят

в состав разнообразных биоценозов и играют важнейшую роль в развитии биосферы (Вассер и др., 1989), принимают участие в круговороте веществ и, являясь составной частью общей трофической цепи, активно потребляются различного рода беспозвоночными животными (простейшими, моллюсками, ракообразными) (Гутельмахер, 1986; Монаков, 1998). К настоящему времени биология водорослей обстоятельно изучена, однако процессы взаимоотношений альгокультур с другими организмами в гидробиоценозах исследованы недостаточно. Обнаруженная у ряда водорослей антилизоцимная активность, направленная на инактивацию лизоцима (Бухарин, Немцева, 2008), позволила предположить участие этого признака водорослей в процессах их жизнедеятельности и взаимодействиях с другими гидробионтами. В связи с этим мы попытались определить экологические особенности развития водорослей и роль этого признака, в условиях различного давления абиотических и биотических факторов среды. При этом акцент в работе был сделан на выявление значения антилизоцимной активности альгофлоры для внутривидовых и межвидовых взаимодействий водорослей внутри альгоценоза и в сообществах с другими гидробионтами.

### **Материал и методы**

Материалом для исследований послужили пробы фитопланктона, отобранные из водоемов, различающихся по своему экологическому состоянию, расположенных на территории Оренбургской области (реки Урал, Сакмара, Черная, Каргалка, Илек, соленые Соль-Илецкие озера Развал, Новое, Дунино, Тузлучное, Малое городское, Большое городское, пресное озеро Круглое). Отбор проб осуществляли в течение 1997 – 2009 гг. Идентификацию водорослей проводили общепринятыми методами (Забелина и др., 1951; Голлербах и др., 1953; Царенко, 1990).

Аксенические культуры водорослей получали по оригинальной методике (Немцева и др., 2001), заключающейся в разобщении водорослевых клеток путем втирания шпателем в поверхность агаризованных питательных сред, содержащих мертиолат в концентрации 2 мг/л. После суточной инкубации в термостате при 25°C единичные микроколони водорослей пересеивали с кусочками среды в жидкие питательные среды и культивировали до накопления необходимой биомассы общепринятыми методами (Вассер и др., 1989). Антилизоцимную активность водорослей определяли модифицированным методом (Бухарин и др., 1997). Индикаторной культурой служил

штамм *Micrococcus lysodeikticus* №2665 (ГИСК им. Л.А.Тарасевича).

Для экспериментального изучения влияния рН на водоросли использовали микрокосмы объемом 1.5 дм<sup>3</sup>, в которые вносили антилизоцимактивные виды водорослей, в концентрации  $1.5 \cdot 10^5$  кл/л. рН изменяли до значений 4.5; 5.0; 6.2; 7.4; 8.0; 8.4 путем добавления 0.1н соляной кислоты и поддерживали его на заданном уровне в течение последующих 15 дней. Контролем служил аналогичный микрокосм, не подвергшийся описанному воздействию. Концентрацию жизнеспособных водорослей и их антилизоцимную активность определяли после адаптации к изменившейся среде, на 3-5, 13-15 сутки.

Сокультивирование водорослей с организмами-фитофагами (*Daphnia magna* Straus, *Tetrachymena pyriformis* Ehr.) осуществляли по описанной ранее методике (Бухарин и др., 2001). Клоны альгокультуры *Chlorella vulgaris* Beijer получали путем рассева взвеси водорослей на агаризованную среду Кнопа. В дальнейшем отдельно выросшие колонии переносили в жидкую среду Кнопа (Квитко, 1961). В экспериментах по сокультивированию использовали аксенические культуры зеленых водорослей с антилизоцимным признаком – *Chlorella vulgaris* (АЛА+), а также без признака – *Scenedesmus acutus* Meyen, *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Brab, *Monoraphidium contortum* (Thur.) Kom.-Legn. (АЛА-). Полученные результаты обрабатывали статистически (Лакин, 1990).

### Результаты

В процессе исследований в планктоне р. Урал и ее основных притоков в районе г. Оренбурга было выявлено 244 вида водорослей, относящихся к 109 родам и семи отделам, из которых зеленые составили 50% видового состава, диатомовые – 26%, синезеленые – 11%, эвгленовые – 10%, хризофитовые – 1.2%, желтозеленые и данофитовые – 0.7% и 1.1% соответственно. Наибольшее число видов водорослей было обнаружено в р. Урал – 226 видовых и внутривидовых таксонов, при этом в районе водозабора идентифицировано 216, а в районе сброса с городских очистных сооружений – 70 видовых и внутривидовых таксонов водорослей. В воде р. Сакмара идентифицировано 139 таксонов, в р. Илек – 147. Наименьшим видовым разнообразием характеризовались реки Каргалка и Черная, в воде которых установлено 113 и 111 видовых и внутривидовых таксонов, соответственно. В соленых Соль-Илецких озерах обнаружено 66 видов, относящихся к пяти отделам: зеленые

водоросли – 37.9%, синезеленые – 24.2%, диатомовые – 24.2%, эвгленовые – 12.1% и динофитовые – 1.6%. В пресном оз. Круглое выявлено 139 видов водорослей, относящихся к семи отделам: зеленые водоросли - 67%, синезеленые - 15%, диатомовые – 8.7%, эвгленовые – 6.5%, хризофитовые – 1.4%, динофитовые – 0.7% и желтозеленые – 0.7%.

Проведенные флористические исследования позволили выделить факторы, влияющие на видовое разнообразие фитопланктона. В р. Урал и ее основных притоках формируются сообщества водорослей, состав которых тесно связан с такими параметрами среды, как содержание органического вещества и наличие поллютантов. Основным структурообразующим фактором в озерах явился уровень солености воды, определяющий не только состав основных компонентов альгоценозов, но и степень разнообразия водорослевых сообществ в целом. Основную массу фитопланктона составляли широко распространенные виды – космополиты. При высокой «экстремальности» среды значительную долю в альгоценозах занимали эндемичные виды водорослей (галофилы, ацидофилы и т.д.), физиологически более приспособленные к данным условиям.

Среди изученных альгокультур доля видов, проявляющих антилизоцимную активность, составила 43.5% среди синезеленых водорослей, 23% - среди зеленых водорослей, у представителей других отделов (эвгленовые, желтозеленые, диатомовые) этот признак не обнаружен. Максимальное проявление признака наблюдалось у таких представителей синезеленых водорослей, как *Sphaeronostoc zetterstedtii* (Aresch.) Elenk. – 6 мкг/мл и *Oscillatoria limnetica* f. *limnetica* Lemm. – 4 мкг/мл; минимальные значения антилизоцимной активности были характерны для *Aphanizomenon flos-aque* (L.) Ralfs, *Nostoc commune*, *Oscillatoria simplicissima* Gom. (2 мкг/мл). Среди зеленых водорослей максимальная экспрессия антилизоцимного признака отмечена у *Spirogyra* sp. – 6 мкг/мл, *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. – 4 мкг/мл, *Chlorella vulgaris* – 4 мкг/мл, *Asteromonas gracilis* – 4 мкг/мл, тогда как у *Pediastrum simplex* Meyen, *Scenedesmus parvus* (G.M. Smith) Bourr. et Mang. и *Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chod. она была минимальной (2 мкг/мл).

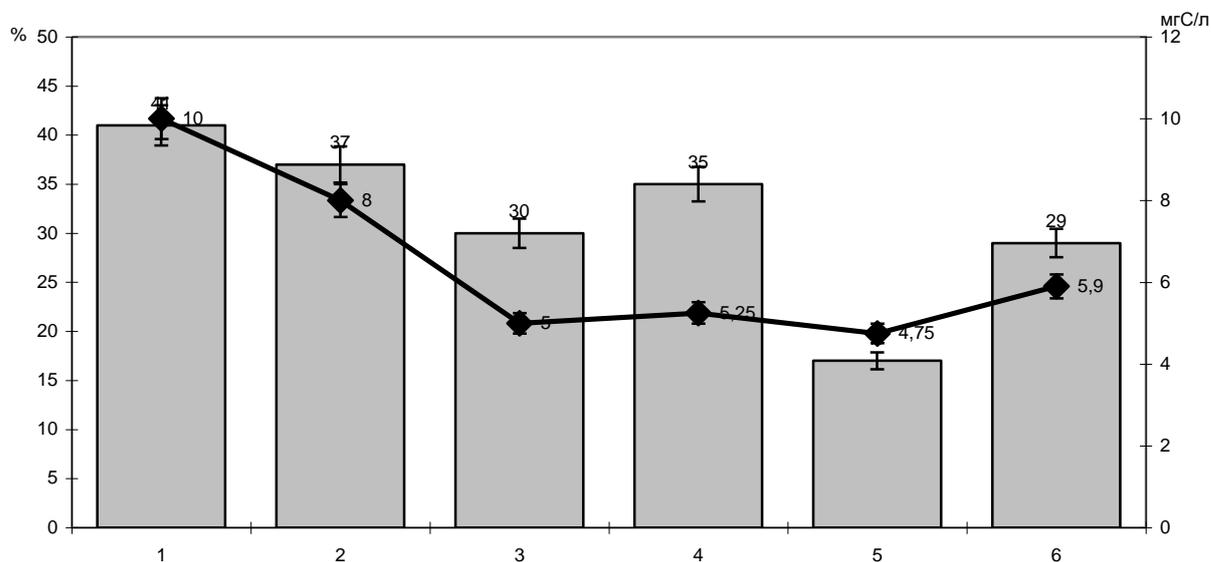
Выраженность антилизоцимной активности варьировала от 2 до 6 мкг/мл у различных видов зеленых и синезеленых водорослей, тогда как у представителей других отделов (эвгленовые, желтозеленые, диатомовые) этот признак отсутствовал. Не исключено, что проявление антилизоцимной

активности связано с таксономическими особенностями водорослей.

В последующем был определен диапазон вариабельности антилизотимного признака в зависимости от условий обитания водорослей. Для этого были изучены особенности распространенности и выраженности антилизотимной активности водорослей в условиях воздействия некоторых абиотических (уровень растворенного органического вещества, уровень минерализации, температурный режим и рН) и биотических (влияние фитофагов и межвидовая конкуренция) факторов окружающей среды.

При исследовании природных сообществ установлено, что распространенность антилизотимной активности водорослей в речных и озерных экосистемах варьировала. В исследованных реках доля видов, обладающих антилизотимной активностью, колебалась в пределах от  $14 \pm 0.7\%$  до  $72 \pm 3.6\%$  общей численности водорослей. В озерных альгоценозах доля водорослей с антилизотимной активностью составила от  $1.2 \pm 0.06\%$  до  $65 \pm 3.3\%$  их общей численности.

Сопоставление количества растворенного органического вещества и интенсивности развития водорослей с антилизотимной активностью выявило связь этих показателей ( $r = 0.89$ ) (рис. 1).



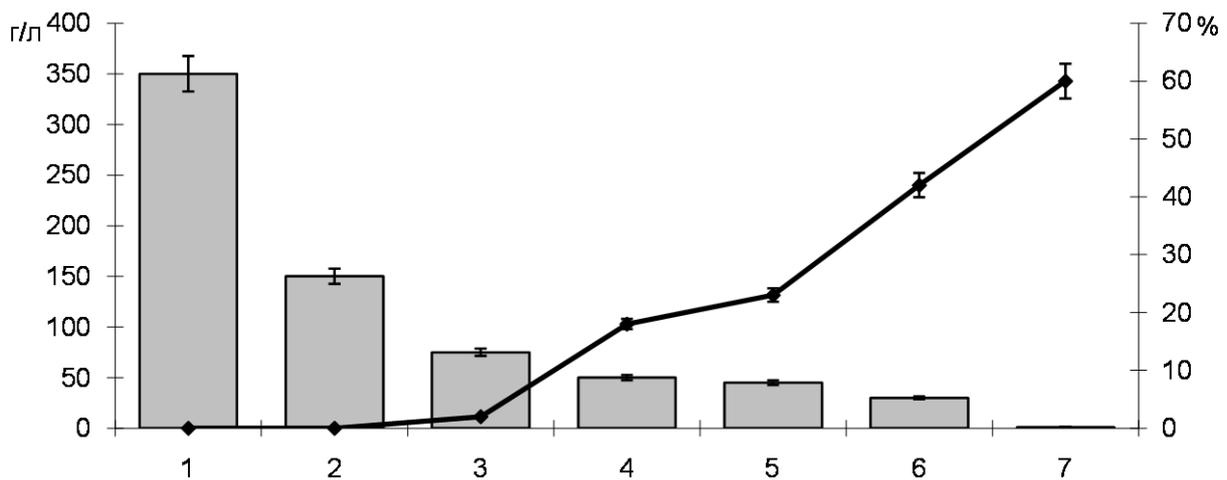
**Рис. 1.** Динамика видового состава водорослей в альгоценозах рек (столбцы) в зависимости от уровня растворенного органического вещества (линия).

*Обозначения:* По левой оси ординат: доля антилизотимных видов водорослей; по правой оси ординат: уровень растворенного органического вещества; по оси абсцисс: 1 – р. Урал («водозабор»),

2 – р. Урал («сброс»), 3 – р. Сакмара, 4 – р. Каргалка, 5 – р. Черная, 6 – р. Илек.

Так, наибольшее количество антилизоцимативных видов водорослей обнаружено в реках с высоким уровнем растворенного органического вещества – р. Черной и р. Урал в точке сброса с городских очистных сооружений, где их доля была выше, чем в реках с более низким содержанием растворимой органики. В р. Каргалка и р. Илек зарегистрировано среднее количество антилизоцимативных видов водорослей –  $33 \pm 1.7\%$ . Реки с чистой водой (р. Сакмара и р. Урал в точке водозабора) характеризовались наименьшим количеством водорослей с антилизоцимной активностью –  $23 \pm 1.2\%$ . Основную долю антилизоцимативных водорослей в реках составили такие виды, как *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend Elenk., *C. vulgaris*, *S. acuminatus*, *Ankistrodesmus fusiformis* Corda ex Korsch.

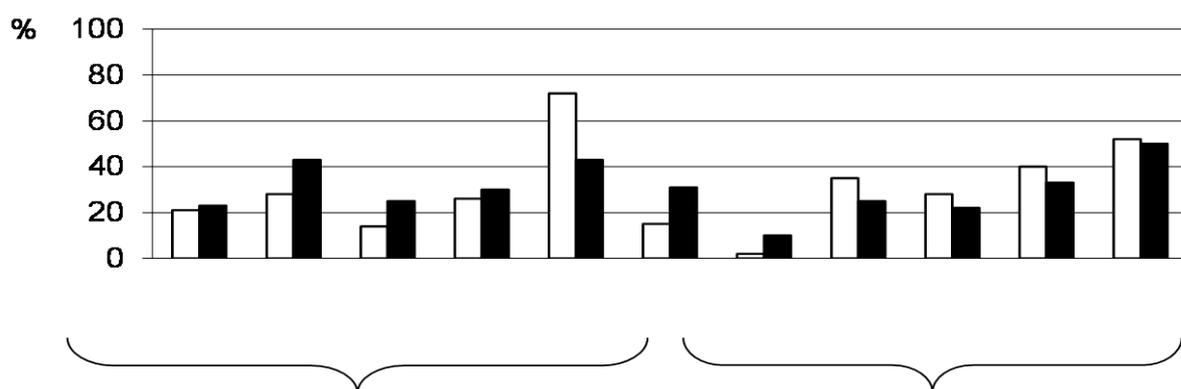
При исследовании озерных экосистем оказалось, что по мере снижения минерализации воды доля водорослей с антилизоцимной активностью возрастает. Так, в оз. Развал и оз. Новое, где соленость воды составляет в среднем 350 г/л, антилизоцимативные водоросли не выявлены (рис. 2).



**Рис. 2.** Динамика видового состава водорослей в альгоценозах озер (столбцы) в зависимости от уровня минерализации (линия).  
 Обозначения: по левой оси ординат: минерализация; по правой оси ординат: доля антилизоцимативных видов водорослей; по оси абсцисс: 1 – о. Развал, 2 – о. Новое, 3 – о. Дунино, 4 – о. Тузлучное, 5 – о. Малое городское, 6 – о. Большое городское, 7 – о. Круглое.

В оз. Дунино, с соленостью воды 210 г/л, доля водорослей с антилизоцимной активностью составила в среднем  $2 \pm 0.1\%$  от всей численности. В озерах Тузлучное, Малое Городское и Большое Городское (минерализация составляет от 27 до 12 г/л) этот показатель увеличился и колебался в пределах от  $12 \pm 0.6\%$  до  $42 \pm 2.1\%$ . Максимальная численность водорослей с антилизоцимной активностью установлена в фитопланктоне пресного оз. Круглое. Наиболее характерными для большинства соленых озер являлись такие виды водорослей с антилизоцимной активностью, как *Spirulina major* Kütz., *Anabaena constricta* (Szaf.) Geitl., *C. vulgaris*, *A. gracilis*, *S. acuminatus*. Для пресного оз. Круглого характерными видами являлись *M. aeruginosa*, *O. simplicissima*, *Pediastrum tetras* (Ehr.) Ralfs. Интересно, что водоросли *A. constricta*, *C. vulgaris*, *S. acuminatus*, обладающие антилизоцимной активностью, встречались как в соленых, так и в пресных водоемах.

Отмечено влияние температурного фактора, отразившееся на сезонной динамике развития водорослей с антилизоцимной активностью. В большинстве рек развитие водорослей с антилизоцимной активностью преобладало в летний период, в то время как в р. Урал в точке водозабора и р. Черной пик их развития приходился на зимний период (рис. 3). Сезонные колебания развития антилизоцимактивных водорослей в большинстве исследованных озер были слабо выраженными (рис. 3).



**Рис. 3.** Динамика численности антилизоцимактивных водорослей в разные сезоны (белые столбцы – зимний период; черные столбцы – летний период).

*Обозначения:* по оси ординат – доля антилизоцимактивных видов водорослей; по оси абсцисс: 1 – реки (1 – р. Урал («водозабор»), 2 –

р. Урал («сброс»), 3 – р. Сакмара, 4 – р. Каргалка, 5 – р. Черная, 6 – р. Илек); II – озера (1 – о. Дунино, 2 – о. Тузлучное, 3 – о. Малое городское, 4 – о. Большое городское, 5 – о. Круглое).

Установлено, что виды *A. constricta* и *O. limnetica*, обладающие антилизоцимной активностью, встречались в исследованных водоемах в отдельные сезоны года. Напротив, виды *M. aeruginosa*, *C. vulgaris*, *A. fusiformis* регистрировались круглогодично, или преобладали в отдельные сезоны.

При изучении влияния колебаний рН на антилизоцимную активность водорослей в эксперименте показано, что концентрация жизнеспособных водорослей в популяции и ее антилизоцимная активность изменялись по мере закисления или защелачивания воды ( $r = 0.76$ ). При значении рН 4.5 происходило постепенное отмирание водорослей, а их антилизоцимная активность не регистрировалась. После прекращения закисления восстановление водорослевой популяции не наблюдалось. Очевидно, это свидетельствовало о необратимом характере закисления, а значение рН 4.5 можно отнести к пограничному. При рН 6.2 количество водорослей не изменялось, но антилизоцимная активность у них по-прежнему не проявлялась. При рН 7.4, а также при сдвиге в щелочную сторону (рН 8.0-8.4), проявление антилизоцимной активности у альгокультур сохранялось, однако при рН 8.4 количество водорослей в микрокосме резко снижалось.

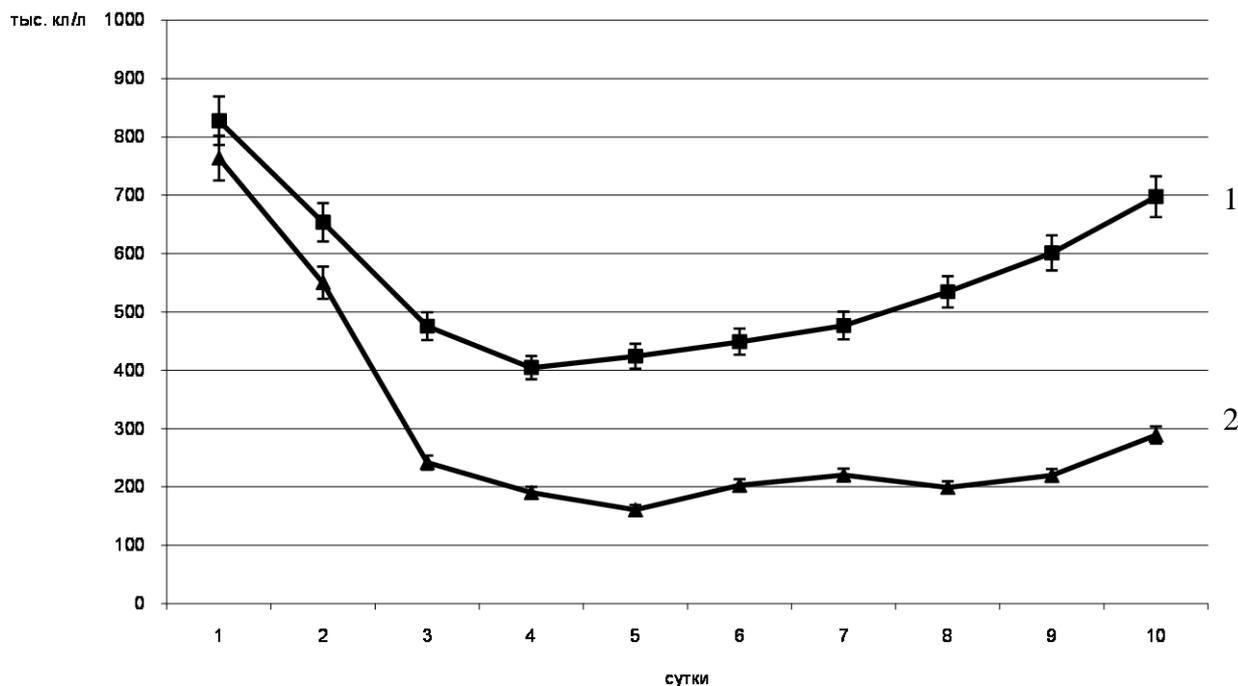
Таким образом, совершенно очевидно, что изменение антилизоцимной активности водорослей может служить показателем раннего экологического неблагополучия, задолго до необратимых нарушений гомеостаза водоема.

Для выявления роли антилизоцимной активности водорослей в условиях биоценологических взаимодействий были проанализированы результаты сокультивирования водорослей с организмами-фитофагами (*D. magna* и *T. rugiformis*) или друг с другом.

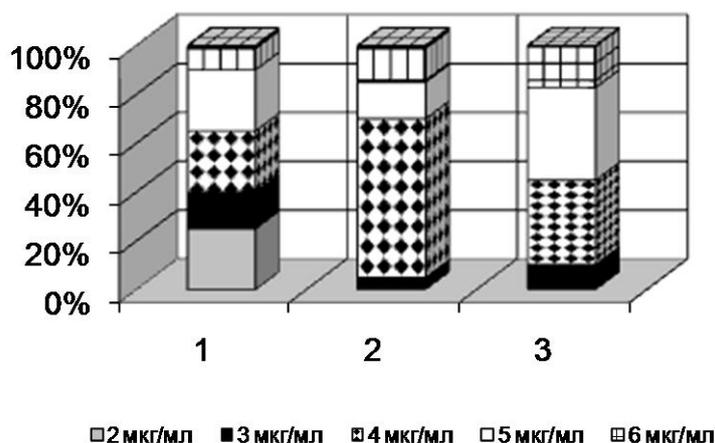
Влияние фитофагов исследовали на модели «кладоцеры-водоросли» в триксенной культуре дафний с *C. vulgaris* (АЛІА+) и *S. acutus* (АЛІА-). Установлено, что в присутствии организмов-фитофагов в альгоценозе происходит увеличение доли антилизоцимных водорослей (*C. vulgaris*), за счет их более медленного «выедания» по сравнению с другим видом, не обладающим данным признаком (*S. acutus*) (рис. 4).

Кроме того, оказалось, что воздействие фитофагов приводит к измене-

ниям в популяции антилизоцимативного вида водорослей, заключающимся в снижении доли клонов с низким уровнем антилизоцимной активности (2-3 мкг/мл) (рис. 5). Аналогичные внутрипопуляционные изменения выявлены при сокультивировании водорослей с инфузориями *T. pyriformis*.



**Рис. 4.** Численность водорослей с антилизоцимной активностью (1 – *C. vulgaris*) и без антилизоцимной активности (2 – *S. quadricauda*) в ассоциации с фитофагами. По оси ординат: численность водорослей; по оси абсцисс: длительность сокультивирования.



**Рис. 5.** Соотношение клонов водорослей в исходной популяции *C. vulgaris* (1) и после сокультивирования с фитофагами – *D. magna* (2) и *T. pyriformis* (3).

Значительное развитие антилизоцимативных водорослей в исследованных водоемах в альгосообществах позволяет предположить определенную роль антилизоцимной активности в доминировании тех или иных видов водорослей внутри альгоценоза. Для проверки этого предположения сокультивировали три вида водорослей *S. vulgaris* (АЛА+), *S. quadricauda* и *M. contortum* (АЛА-). Контролем служили моноксенные культуры указанных видов водорослей. В эксперименте было отмечено увеличение скорости размножения *S. vulgaris* в 1.3 раза, по сравнению с контролем.

При этом наблюдалось угнетение развития *M. contortum*, по сравнению с контролем, в 1.5 раза. Исходя из этого, можно предположить, что антилизоцимативные виды водорослей способны к энергичному захвату биотопа, более полному использованию ресурса и мощному конкурентному подавлению соперников. В итоге, виды водорослей, обладающие антилизоцимной активностью занимают доминирующее положение. В то же время виды, не проявляющие антилизоцимную активность, обладают слабой устойчивостью к стрессовым ситуациям и невысокой конкурентной мощностью, однако быстро захватывают биотоп при отсутствии конкурентного давления.

Полученный материал свидетельствует, что антилизоцимная активность водорослей позволяет занять доминирующее положение в альгоценозе, вероятно объясняет механизм развития “цветения” водоемов, при котором преобладают антилизоцимативные виды водорослей, такие как *M. aeruginosa*, *A. constricta*, *Phormidium tenue* (Menegh.) Gom., *S. vulgaris* (Григорьева и др., 1985).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Немцева Н.В., Алехина Г.П. Лизоцимная и антилизоцимная активность альгофлоры. Микробиология, 1997. Т. 66. № 3: 429-432.
2. Бухарин О.В., Немцева Н.В. Микробиология биоценозов природных водоемов, Екатеринбург: УрО РАН, 2008, 156 с.
3. Вассер С.П., Кондратьева Н.В., Масюк Н.П. и др. Водоросли. Справочник. Киев: Наукова думка, 1989. 608 с.
4. Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. Синезеленые водоросли. Определитель пресноводных водорослей СССР. М., 1953. Вып. 2. 652 с.
5. Григорьева Л.В., Касьяненко А.М., Корчак Г.И. и др. Санитарная микробиология эвтрофных водоемов. Киев: Здоровье, 1985. 224 с.
6. Гутельмахер Б.Л. Метаболизм планктона как единого целого. Л.: Зоол. Ин-т АН СССР, 1986. 153 с.
7. Забелина М.М., Киселев И.А., Прошкина-Лавренко А.И., Шешукова В.С. Диатомовые водоросли // Определитель пресноводных водорослей СССР. М., 1951. Вып. 4. 619 с.
8. Квитко К.В. Получение культур от отдельных клеток хлореллы. В кн.: Исследования

- по генетике. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1961. Вып.1. С. 50–54.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
  10. Монаков А.В. Питание пресноводных беспозвоночных. М.: РАН, 1998. 321 с.
  11. Немцева Н.В., Алехина Г.П., Шабанов С.В., Бухарин О.В. Способ выделения аксенических культур микроводорослей. Патент РФ № 2164940. Бюл. 2001.
  12. Царенко П.М. Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской ССР. Киев: Наукова думка, 1990. 208 с.

*Поступила 27.01.2012*

*(Контактная информация: **Немцева Наталия Вячеславовна** – д.м.н., профессор, заведующая лабораторией водной микробиологии Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, тел/факс (3532) 77-54-17; E-mail: nemtsevanv@rambler.ru)*