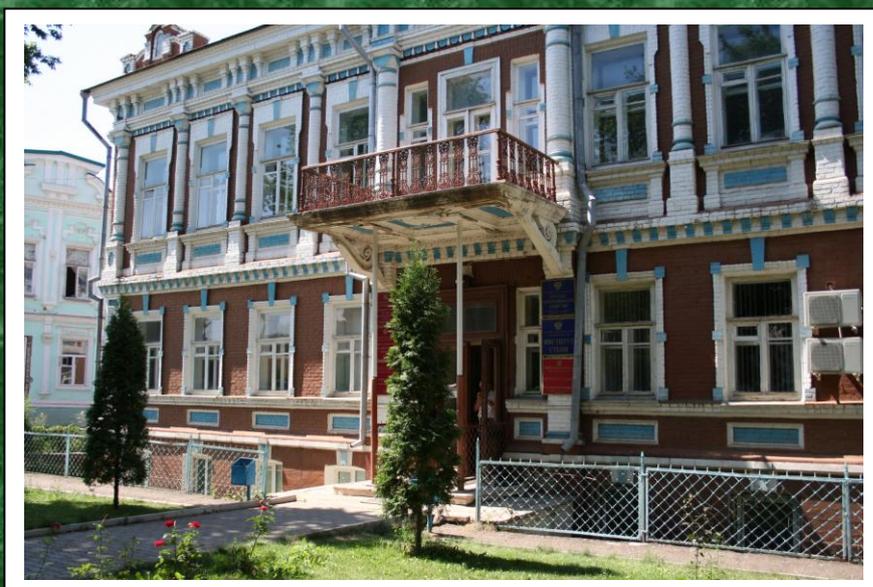


ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2012 * № 3

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

© Т.Н. Яценко-Степанова, Н.В. Немцева, 2012

УДК 574.58

Т.Н. Яценко-Степанова, Н.В. Немцева

УСТОЙЧИВОСТЬ СООБЩЕСТВА АВТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК МЕХАНИЗМ ВЫЖИВАНИЯ В ВОДОЕМАХ

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель исследования. Изучение векторной направленности взаимодействия отдельных компонентов сообщества автотрофных микроорганизмов в условиях эксперимента.

Материалы и методы. В работе использованы данные, полученные при сокультивировании в параллельных экспериментах различных комбинаций автотрофных микроорганизмов: Chlorophyta (основной партнер, «хозяин»); Bacillariophyta (доминантный микропартнер) и Cyanobacteria (ассоциативный микросимбионт).

Результаты. В условиях ассоциативного симбиоза у доминантных микросимбионтов отмечен эффект прямого действия на «хозяина», а также опосредованного, осуществляемого через усиление или ослабление ассоцианта в зависимости от его отношения к «хозяину». Если ассоциативный микропартнер выступает против основного партнера, то доминантный партнер подавляет развитие ассоцианта, в случае позитивного влияния ассоциативного микропартнера на основного партнера, доминант усиливает развитие ассоцианта.

Заключение. Учитывая, что устойчивость сообщества определяется особенностями взаимодействия входящих в него популяций, можно говорить о двух механизмах сохранения системы: 1 - функциональное распределение «ролей» по типу ассоциативного симбиоза; 2 - векторная направленность ассоциативно-симбионтных взаимоотношений структурных компонентов автотрофного сообщества.

Ключевые слова: автотрофные микроорганизмы, сокультивирование, ассоциативный симбиоз, устойчивость сообщества, симбиотические взаимодействия.

T.N. Yatsenko-Stepanova, N.V. Nemtseva

WATER AUTOTROFIC MICROORGANISMS COMMUNITIES HAVE THE MECHANISMS FOR KEEPING STABILITY

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

Objective. This study examines the hypothesis that interaction of the components of autotrophic microorganisms community has a vector orientation.

Materials and methods. In the experiment several autotrophic microorganisms were cultivated in various combinations. We used Chlorophyta as dominant partner (DP), “host”, Bacillariophyta as dominant micropartner (DM) and Cyanobacteria as associative microsymbiont (AM).

Results. We found that in conditions of associative symbiosis DMs have both direct and indirect effects on the “host”. At the same time the indirect effects are carried out by strengthening or weakening of the AMs, according to the type of their relationship with the “host”. That means, if the AM opposes the DP, the AM is weaken, and if the AM stimulates the DP, the AM is strengthen.

Conclusion. Thus, we concluded, that there are two mechanisms of system maintenance. The first is in the functional division of the roles according to the type of the associative symbiosis. The

second is in the vector orientation of the associatively-symbiotic interactions between components of the autotrophic community.

Key words: autotrophic microorganisms, cultivation, associative symbiosis, stability of the community, symbiotic interactions.

Введение.

Как известно, устойчивость - один из важнейших параметров любых систем. В связи с ростом антропогенной нагрузки на сегодняшний день большое распространение в литературе получили вопросы устойчивости природных сообществ и экосистем [1, 7, 12]. В классическом варианте [6] устойчивость определяется как способность экосистемы и ее отдельных частей противостоять колебаниям внешних факторов и сохранять свою структуру и функциональные особенности.

Ранее нами было показано наличие в водоемах константного сообщества автотрофных микроорганизмов, устойчивость которого определяется структурно-функциональными особенностями [4, 13]. Было установлено, что в альгосообществе возникает вполне определенная ассоциация организмов с общим структурным алгоритмом взаимоотношений по типу ассоциативного симбиоза, включающим взаимодействие основного партнера («хозяина») с постоянными и сопутствующими компонентами системы. При этом основной партнер является своеобразным центром формирования сообщества; постоянные компоненты (доминантные микросимбионты) выполняют роль партнеров, взаимодействующих друг с другом (путем формирования «цепочек взаимозамещения») и осуществляющих стабильное существование симбиоза в целом; сопутствующие компоненты играют роль ассоциативных микросимбионтов. В итоге, наличие ассоциативно-симбионтных взаимоотношений способствует устойчивому выживанию комплекса автотрофных микроорганизмов.

Однако направленность действия микросимбионтов друг на друга и на основного партнера среди автотрофных микроорганизмов ранее не изучалась. В связи с этим мы сделали попытку проанализировать векторную направленность взаимодействия отдельных компонентов системы: а) доминантный партнер – основной партнер; б) ассоциативный партнер - основной партнер; в) доминантный партнер – ассоциативный партнер.

Материалы и методы.

Для оценки векторной направленности ассоциативно-симбионтных взаимоотношений структурных компонентов устойчивого комплекса автотрофных микроорганизмов в стеклянных емкостях объемом 5 дм³ на основе воды природного пресного водоема были созданы лабораторные микрокосмы. В соответствии с представленной выше моделью в параллельных экспериментах были использованы различные комбинации автотрофных микроорганизмов: Chlorophyta (основной партнер, «хозяин») + Bacillariophyta (доминантный микропартнер) + Cyanobacteria (ассоциативный микросимбионт) (серия 1); Chlorophyta + Bacillariophyta (серия 2); - Chlorophyta + Cyanobacteria (серия 3); Cyanobacteria + Bacillariophyta (серия 4). В эксперименте Chlorophyta были представлены родами: Ankistrodesmus Corda, Coelastrum Näg., Crucigenia Mor., Kirchneriella Schmidle, Pediastrum Meyen, Scenedesmus Meyen, Tetraedron Kütz. ex Korsch.; Bacillariophyta – родами Cyclotella Kütz. и Synedra Ehr.; Cyanobacteria – родами Oscillatoria Vauch. и Aphanizomenon Mor. при соотношении компонентов 7:2:2, приближенном к соотношению в естественных водоемах.

Выявление наличия или отсутствия рост-стимулирующего эффекта осуществляли путем сравнения индексов плотности (ИП) Брочкой-Зенкевича [8]. Контролем служили аналогичные емкости, в которых выращивали культуры, относящиеся к одному отделу.

Вегетация сообщества автотрофных микроорганизмов проходила при комнатной температуре, обычном световом режиме. Учет численности клеток, биомассы с вычислением индекса плотности (ИП) осуществляли 1 раз в 3 дня в течение 59 суток (длительность эксперимента). Для статистической достоверности каждое измерение производили трижды. Для последующей обработки с целью унификации полученных результатов вычисляли натуральный логарифм (ln) значений ИП.

Все вычисления проводили на персональном компьютере IBM PC на базе Intelpentium II, с помощью процессора электронных таблиц “Microsoft Excel 2003” в составе пакета программ “Microsoft Office 2003 for Windows XP”; а также программы “корреляционный анализ” в составе пакета программ Statistika 6,0 for Windows XP 2003.

Результаты.

В первой серии экспериментов при сокультивировании Chlorophyta, Bacillariophyta и Cyanobacteria (в объеме представленных родов) установлено,

что динамика ИП всех компонентов сообщества на протяжении эксперимента была представлена синусоидальными кривыми. Отмечен период становления сообщества (с 1 по 10 сутки), а также его угасания (с 31 по 59 сутки). Начиная с 11 по 30 сутки сокультивирования, колебания кривых показателей ИП носили однотипный характер, отражая функционирование зрелого сообщества. Поскольку период угасания сопряжен с высоким антагонизмом, приводящим к гибели сообщества, он был исключен из дальнейшего обсуждения.

Используя показатель прироста ИП, предпринята попытка оценить взаимное влияние компонентов сообщества автотрофных микроорганизмов с позиций ассоциативного симбиоза. В частности, предполагалось определить соответствующую векторную направленность при взаимодействии: 1) доминантные микропартнеры (Bacillariophyta) – основной партнер (Chlorophyta); 2) ассоциативные микросимбионты (Cyanobacteria) – основной партнер (Chlorophyta); 3) доминантные микропартнеры (Bacillariophyta) – ассоциативные микросимбионты (Cyanobacteria).

Как видно из рисунка 1, в первом периоде - становления сообщества - происходило формирование взаимоотношений его компонентов. Прирост ИП Chlorophyta по сравнению с контролем увеличился в 1,5 раза, что можно рассматривать в качестве примера положительного влияния Bacillariophyta на Chlorophyta.

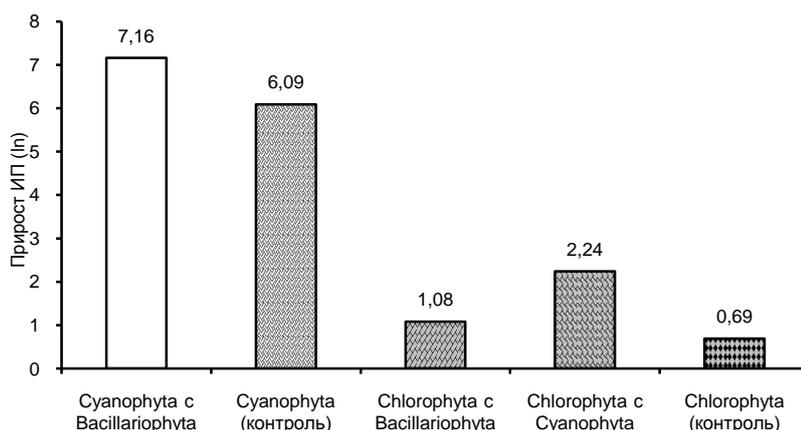


Рис. 1. Оценка взаимного влияния партнеров в период становления водорослевого сообщества.

При анализе взаимодействий в системе «ассоциативные микросимбионты (Cyanobacteria) – основной партнер (Chlorophyta)» выявлено усиливающее

влияние цианопрокариот на Chlorophyta, о чем свидетельствует трехкратный прирост ИП в ассоциации по сравнению с контролем (рис. 1).

Изучение влияния доминантных микропартнеров (Bacillariophyta) на ассоциативные микросимбионты (Cyanobacteria) показало наличие эффекта усиления развития цианопрокариот в присутствии диатомей по сравнению с контролем. Исходя из полученных данных, в исследуемой паре наблюдалось позитивное влияние диатомовых на цианопрокариот (рис. 1).

В итоге, в период становления водорослевого сообщества Bacillariophyta и Cyanobacteria позиционировали себя, соответственно, в качестве доминантного и ассоциативного партнеров, положительно воздействуя на основного партнера - «хозяина». Во взаимодействиях между партнерами отмечено как прямое, так и опосредованное влияние. Прямое влияние заключалось в непосредственной стимуляции доминантным и ассоциативным симбионтами основного партнера. При опосредованном влиянии доминантный партнер (Bacillariophyta) усиливал развитие ассоциативного микросимбионта (Cyanobacteria), который, в свою очередь, позитивно воздействовал на основного партнера.

Векторная направленность описанных взаимодействий симбионтов представлена на рисунке 2а.

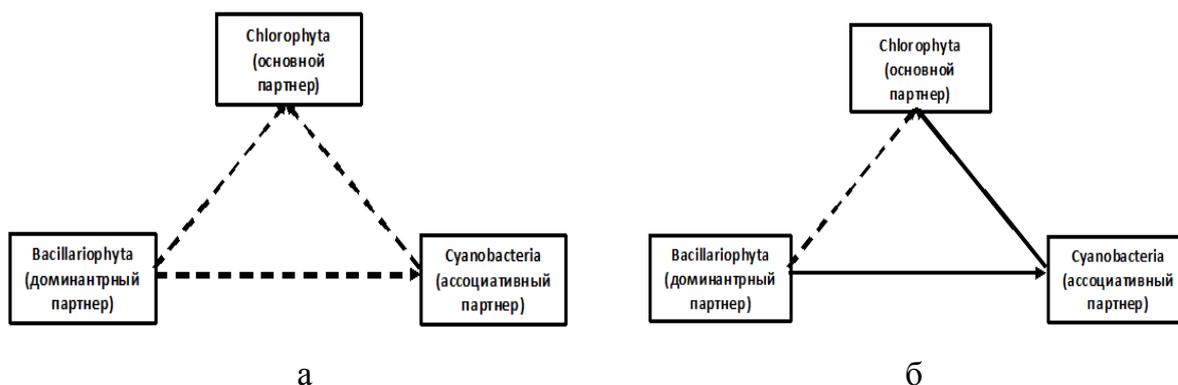


Рис. 2. Схема векторной направленности взаимодействия компонентов в период становления сообщества (а) и зрелого сообщества (б).

Условные обозначения:▶ - стимуляция; —▶ - подавление.

В период зрелого сообщества ассоциативный микропартнер (Cyanobacteria) проявлял антагонистическую активность по отношению к основному партнеру, о чем свидетельствовало почти трехкратное снижение прироста ИП Chlorophyta в ассоциации с Cyanobacteria по отношению к контролю. В этом случае доминантный партнер (Bacillariophyta) оказывал поддержку основному

партнеру, во-первых, напрямую стимулируя развитие «хозяина» (Chlorophyta) и, во-вторых, опосредованно, ослабляя ассоциативного микропартнера (Cyanobacteria), проявляющего антагонизм по отношению к «хозяину» (рис. 2б).

Заключение.

Как было показано ранее, симбиотические связи, присутствующие в константном фитопланктонном сообществе, то есть в устойчивом комплексе автотрофных микроорганизмов, определяются наличием основного партнера или «хозяина» (Chlorophyta), стабильных доминантных микропартнеров (чаще всего Euglenophyta, Dinophyta, Bacillariophyta), представленных группой взаимозаменяемых симбионтов, и сопутствующих ассоциативных микросимбионтов (обычно Cyanobacteria, Xanthophyta) [4, 13].

Важное значение при изучении ассоциативного симбиоза имеет оценка направленности взаимодействия основного партнера-«хозяина», доминантов и ассоциантов. Однако этот подход пока отработан не достаточно и не имеет сформированной методологической базы.

Несмотря на молодость этого научного направления, прослеживается эволюция взглядов. В.В. Игнатов [9], описывая молекулярные основы взаимоотношений, анализирует только позитивные связи микроорганизмов ассоциантов с растением-хозяином. Е.С. Лобакова [10], рассматривая взаимодействие доминантных и ассоциативных симбионтов с растением – хозяином, отдавая предпочтение позитивным связям, подразделяет их на прямые и опосредованные. С.В. Черкасов [3], не определяя векторной направленности, упоминает, что ассоциативные микроорганизмы в определенных ситуациях могут нарушать нормальный биоценоз тела человека, выступая в роли возбудителей различных заболеваний. О.В. Бухарин с соавт. [5], используя для изучения направленности взаимодействия доминантов и ассоциантов математический подход, показали наличие позитивных и негативных связей (команд) между доминантами и ассоциантами.

В наших исследованиях продемонстрировано неоднозначное значение ассоциативного микросимбионта - Cyanobacteria при взаимодействии с основным партнером в зависимости от стадии развития экспериментального сообщества, заключающееся в стимулирующем или ослабляющем действии. Отмечено, что в определенные моменты развития сообщества цианопрокариоты могли изменять векторную направленность своих взаимоотношений с основным партне-

ром, негативно влияя на него. Это приводило к разрушению структуры постоянного сообщества с доминированием *Cyanobacteria*. Аналогичная картина с полным нарушением гомеостаза в результате антагонизма ассоцианта, вытесняющего доминантного симбионта, и приводящего к состоянию дисбиоза, описана при развитии патологических состояний у человека [11].

В итоге, прослеживается определенная закономерность, заключающаяся в стереотипности поведении ассоциантов в биологических системах любого уровня.

Явление преобладания с массовым развитием цианобактерий в водоемах широко известно и наблюдается в периоды их «цветения». Общеизвестно, что длительное цветение приводит к неблагоприятным изменениям качества вод и накоплению токсинов. В настоящее время расширяется спектр биотехнологий, применяемых для ингибирования «цветения» вод. В частности, Н.И. Богданов [2] эмпирически подошел к решению этой проблемы путем альголизации водоемов штаммом *Chlorella vulgaris*, в результате чего происходила структурная перестройка фитопланктонного сообщества водоёмов, приводящая к увеличению роли *Chlorophyta* в альгоценозе как фактора, сдерживающего развитие цианопрокариот.

С рассмотренных нами позиций ассоциативного симбиоза, при которых устойчивое сообщество автотрофных микроорганизмов структурировано вокруг *Chlorophyta*, являющихся «хозяевами», подход, усиливающий роль основного партнера, получает логическое объяснение.

Обобщая полученные экспериментальные данные, следует отметить, что у доминантных микросимбионтов отмечен эффект прямой и опосредованной помощи основному партнеру. Опосредованное действие на «хозяина» осуществляется путем усиления или ослабления ассоцианта в зависимости от его отношения к «хозяину»: в случае, если ассоциативный микропартнер выступает против основного партнера, то доминантный партнер подавляет развитие ассоцианта, в случае позитивного влияния ассоциативного микропартнера на основного партнера, доминантный партнер усиливает развитие ассоцианта. В общем виде схема взаимоотношений между компонентами ассоциативного симбиоза представлена на рисунке 3.

Исходя из полученных данных, относительно позитивной роли доминантных партнеров, можно предположить, что борьба с цветением водоема

возможна и через усиление этого звена. В связи с этим допустимо расширение спектра автотрофных микроорганизмов, способных восстанавливать структуру сообщества, за счет представителей из других отделов, относящихся к группе доминантных партнеров.

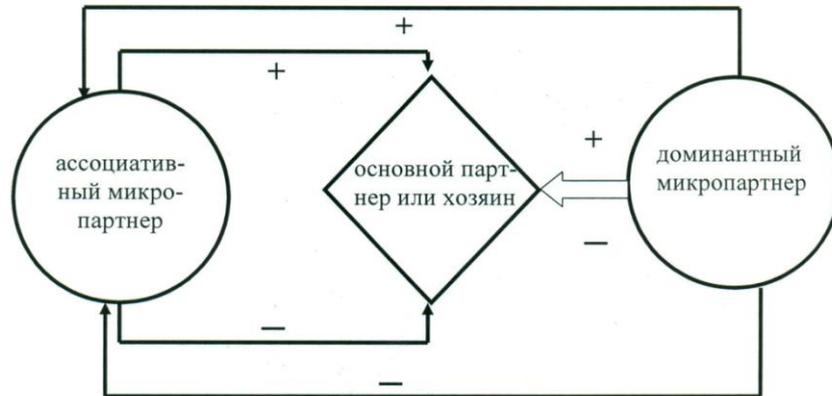


Рис. 3. Схема взаимоотношений между компонентами автотрофного сообщества, сформированного по типу ассоциативного симбиоза.

В итоге, учитывая, что устойчивость сообщества определяется особенностями взаимодействия входящих в него популяций, можно говорить о двух механизмах сохранения системы: первый - функциональное распределение «ролей» по типу ассоциативного симбиоза и, второй - векторная направленность ассоциативно-симбионтных взаимоотношений структурных компонентов автотрофного сообщества. В совокупности эти формы взаимоотношений образуют механизм естественного отбора и обеспечивают устойчивость сообщества как формы выживания.

(Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа» (проект № 12-П-4-1039) и гранта УрО РАН № 12-И-4-2034).

Литература.

1. Алимов А.Ф. Роль биологического разнообразия в экосистемах. Вестник Российской Академии наук. 2006. 11: 989-994.
2. Богданов Н.И. Биологическая реабилитация водоёмов. Пенза: РИО ПГСХА, 2008. 126 с.
3. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. Екатеринбург: УрО РАН, 2007. 264 с.
4. Бухарин О.В., Немцева Н.В., Яценко-Степанова Т.Н. Оценка взаимоотношений симбионтов фитопланктонного сообщества. Экология. 2010. 1: 17-21.
5. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Хлопко Ю.С. Структурно-функциональная характеристика микросимбиоза человека. Журн. микробиол. 2009. 4: 4-8.
6. Дедю И.И. Экологический энциклопедический словарь. Кишинев: Гл.ред. Молд. Сов. Энцикл., 1990. 408 с.

7. Заика В.Е. Устойчивость экосистем. Морський екологічний журнал. 2007. 3: 27-32.
8. Зенкевич Л.А., Броцкая В.А. Материалы по экологии руководящих форм бентоса Баренцева моря. Учен. Зап. МГУ. Зоол., 1937. 3: 203-226.
9. Игнатов В. В. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. Москва: Наука, 2005. 262 с.
10. Лобакова Е.С. Ассоциативная симбиология на примере растительных симбиозов. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2006. 4: 9-16.
11. Усвяцов Б.Я. Новые подходы к структурно-функциональному анализу микросимбиоза человека / Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Перунова Н.Б. и др. Симбиоз и его роль в инфекции. Екатеринбург: УрО РАН, 2011: 63-114.
12. Федоров В.Д. Изменения в природных биологических системах. Москва: Издательство «Спорт и Культура», 2004, 368 с.
13. Яценко-Степанова Т.Н., Немцева Н.В. Структурная организация фитопланктонного сообщества водоемов с позиций концепции ассоциативного симбиоза. Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. 12: 71-76.

Поступила 27.09.2012

(Контактная информация: Яценко-Степанова Татьяна Николаевна – д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, тел/факс (3532) 77-54-17; E-mail: yacenkostn@gmail.ru)