



УДК 581.4: 582.261.58

К. И. Шоренко, м.н.с., Н. А. Давидович, канд. биол. наук, ст. н. с., О. И. Давидович, м.н.с.

Карадагский природный заповедник, пос. Курортное, Феодосия, Республика Крым, Россия

Влияние солёности на морфологические характеристики панцирей двух близких видов диатомовых водорослей *nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow и *n. Rectilonga takano*

Изучено влияние солёности на морфологическую изменчивость панцирей двух близких видов диатомовых водорослей *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow и *N. rectilonga* Takano из Черного моря. Показано влияние уровня солёности на перфорированность панциря и другие таксономические признаки. Установленный факт необходимо учитывать при идентификации видов рода *Nitzschia*, имеющих близкие диагнозы.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, морфология, солёность, *Nitzschia longissima*, *Nitzschia rectilonga*.

Изучение влияния солёности на морфологические характеристики видов является одним из интереснейших вопросов современной таксономии диатомовых водорослей [8, 18, 22]. Особое значение эти сведения приобретают в случае с морфологически близкими видами, что важно для их верной таксономической идентификации. Именно к таким видам относятся *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow, 1862 и *N. rectilonga* Takano, 1983 [12, 14]. В мировой литературе обнаруживаются относительно немногочисленные сведения об изменениях морфологических характеристик панциря диатомовых, вызванных влиянием солёности [8]. При этом существующие работы не рассматривают данную изменчивость в контексте идентификации близких таксонов с перекрывающимися диагнозами. К настоящему времени опубликованы данные по влиянию солёности на створки некоторых видов центральных диатомовых из родов *Coscinodiscus*, *Cyclotella*, *Dityulum*, *Pleurosira*, *Skeletonema*, и родов пениатных *Cylindrotheca*, *Eolimna*, *Grammatophora*, *Nitzschia*, *Thalassionema* [7, 8, 17, 18, 19, 20, 22]. Ранее на основании изучения влияния солёности на различные группы диатомовых был сделан важный вывод об отсутствии специфического влияния данного фактора на морфологию створок [7].

В настоящей статье описывается влияние солёности на морфологически близкие виды рода *Nitzschia*. Солёность является важным фактором среды, влияющим на онтогенез, вегетацию и репродукцию диатомовых водорослей [3, 4, 6, 7, 8, 17, 18]. Кроме того, она выступает одним из лимитирующих

факторов расселения видов. Изученные виды – *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga* относятся к широко распространённым пениатным морским диатомовым [1, 9, 10, 11, 16], способным вегетировать в значительном диапазоне солёности [12, 13].

Влияние солёности на половое воспроизведение и скорость размножения *N. longissima* показано в предыдущих публикациях [6, 12]. Однако вопрос о морфологической изменчивости *N. longissima* и *N. rectilonga*, связанной с изменением условий солёности, до настоящего времени не поднимался.

Материал и методы. Материалом послужили 80 клонов (штаммов), выделенных из бентосных проб, отобранных с глубины до 0.5 м в Карадагской бухте (44°54'42" с.ш. и 35°12'08" в.д.) акватории Карадагского природного заповедника. Под клоном (клоновой культурой) понимается потомство одной клетки, полученное в результате митотического деления. Видовая принадлежность клонов устанавливалась по существующим определителям и атласам [1, 9, 10, 16]. Для подтверждения видового единства полученных клонов с позиций биологической концепции вида осуществляли эксперименты по их скрещиванию. Все клоны получены микропипеточным способом путём многократного переноса одной клетки водоросли в каплю новой среды. Культуры содержались в чашках Петри на среде ESAW с модификациями [5], при естественном освещении со стороны северного окна и температуре 20°C. Для поддержания культур в жизнеспособном

состоянии каждые 10 дней осуществлялся их пересев в новую среду. После выделения клоны обоих видов выращивались параллельно на двух средах 18 и 30 ‰ в течение месяца. Для получения необходимой солёности приготовленную среду (36 ‰) разбавляли необходимым количеством дистиллированной воды. Постоянные препараты панцирей готовили упрощённым способом: отмывали клетки дистиллированной водой от морских солей; кипятили в 15 - 20 % растворе перекиси водорода на песчаной бане до полного разложения органических веществ; промывали дистиллированной водой и консервировали в этиловом спирте для сохранения. Для изготовления постоянных препаратов панцири помещали на предметное стекло, высушивали и заливали высокопреломляющей средой Naphrax. Микрофотографии створок панцирей водорослей получены при помощи световых микроскопов (СМ) Biolar-PI и Olympus IX71, оборудованных устройствами дифференциально-интерференционного контраста по Номарскому, а также сканирующего электронного

микроскопа (СЭМ) JEOL JSM-5600. Микрофотографирование проводилось в Университете Маунт Эллисон (Канада), Институте биологии внутренних вод (Ярославская обл., пос. Борок) и лаборатории альгологии Карадагского природного заповедника (Республика Крым, пос. Курортное). По фотографиям панцирей, полученных на СМ и СЭМ, оценивали удельную плотность расположения штрихов, фибул и ареол в расчёте на единицу длины. Измерения производили с помощью программы ImageJ v.1.45 (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

Результаты и обсуждение. Нами получены данные по следующим морфологическим признакам видов: длина инициальных клеток, ширина вегетативных клеток, длина центральной интерфибулы, плотность расположения штрихов, плотность расположения ареол в штрихе, плотность расположения фибул или интерфибул (табл. 1 и 2).

Табл. 1 Диапазоны варьирования некоторых характеристик панцирей *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga* содержавшихся при разной солёности
Table 1 The ranges of some characteristics of valves of *Nitzschia longissima* and *N. rectilonga* maintained at different salinity

Вид/Солёность	Ширина вегетативных клеток (мкм)	Число штрихов (в 10 мкм)	Число ареол в штрихе (в 1 мкм)	Длина центральной интерфибулы (мкм)	Число фибул/интерфибул (в 10 мкм)	Длина инициальных клеток (мкм)
<i>N.longissima</i> 18‰	5.8–8.2 (N=21)	33.0–38.0 (N=21)	3.3–4.3 (N=21)	1.8–4.2 (N=29)	2.9–6.6 (N=179)	578–737 (N=73)
<i>N.longissima</i> 30‰	4.1–11.2 (N=70)	31.6–38.0 (N=29)	3.5–4.5 (N=24)	1.4–6.5 (N=36)	2.4–7.2 (N=104)	637–720 (N=50)
<i>N.rectilonga</i> 18‰	6.6–8.5 (N=27)	33.0–39.0 (N=94)	3.3–5.0 (N=18)	2.6–6.3 (N=20)	4.1–8.2 (N=392)	395–836 (N=1994)
<i>N.rectilonga</i> 30‰	6.7–10.6 (N=28)	31.5–37.3 (N=44)	3.2–5.8 (N=12)	2.6–11.7 (N=33)	3.9–9.5 (N=92)	595–713 (N=20)

Табл. 2 Средние значения некоторых характеристик панциря *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga* содержавшихся при разной солёности
Table 2 Average values of some characteristics of valves of *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow and *N. rectilonga* Takano maintained at different salinity

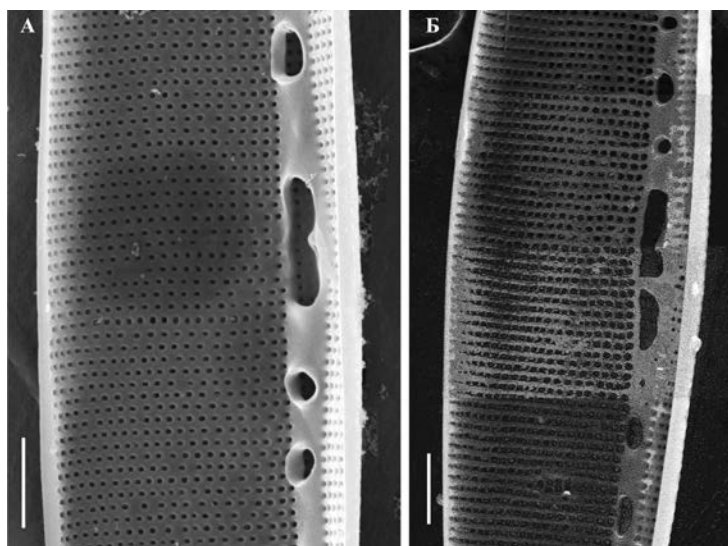
Вид/Солёность	Ширина вегетативных клеток (мкм)	Число штрихов (в 10 мкм)	Число ареол в штрихе (в 1 мкм)	Длина центральной интерфибулы (мкм)	Число фибул/интерфибул (в 10 мкм)	Длина инициальных клеток (мкм)
<i>N.rectilonga</i> 18‰	7.6 ± 0.1	34.5 ± 0.7	3.8 ± 0.1	3.9 ± 0.3	6.2 ± 0.7	698.8 ± 5.8
<i>N.longissima</i> 18‰	7.0 ± 0.2	36.1 ± 0.5	3.8 ± 0.2	2.6 ± 0.2	4.2 ± 0.2	673.0 ± 7.8
<i>N.rectilonga</i> 30‰	8.4 ± 0.3	33.8 ± 0.4	4.0 ± 0.1	4.5 ± 0.3	6.8 ± 0.4	662.0 ± 9.7
<i>N.longissima</i> 30‰	7.5 ± 0.4	35.2 ± 0.4	3.9 ± 0.3	3.2 ± 0.5	4.8 ± 0.2	671.0 ± 5.1

Примечание: Значения N те же, что и в табл. 1

Установлено, что плотность расположения фибул, ареол, ширина клеток и длина центральной интерфибулы закономерно увеличиваются при возрастании солёности, тогда как плотность расположения штрихов и длина инициальных клеток, уменьшаются. Ранее подобное изменение ширины клеток в ответ на увеличение солёности было установлено для *Nitzschia filiformis* var. *conferta* и *N. pusilla* [22]. Аналогично *N. longissima* и *N. rectilonga* изменялась плотность расположения штрихов у *N. frustulum*, хотя *N. pusilla* продемонстрировала иную закономерность [22]. Следовательно, указанные изменения не являются случайными, а формируют направленный специфический ответ организма на влияние среды. Возможно, указанные изменения имеют некое приспособо-

бительное значение. В этом отношении интересна гипотеза о зависимости степени перфорированности панциря диатомовых от физиологической активности клеток [2], которая, по всей вероятности, связана с осмотической плотностью среды. Наблюдаемый нами меньший размер инициальных клеток, формирующихся в среде с большей солёностью (табл. 2), подтверждает также ранее высказанное предположение о том, что набухание ауксоспоры происходит за счет действия осмотических сил [3]. Из полученных данных (табл. 1 и 2) видно, что в наших экспериментах наиболее изменчивыми оказались такие признаки, как ширина клеток и длина центральной интерфибулы (см. рис. 1 и 2).

Рис. 3 *Nitzschia longissima*. Центральная часть створок клеток у клонов, содержащихся при разной солёности (СЭМ): А – 18 ‰; Б – 30 ‰. Масштаб 2 мкм
Fig. 3 *Nitzschia longissima*. Central part of valves of cell grown at different salinities (SEM): A - 18 ‰; B - 30 ‰. Scale 2 μ m



Число фибул, ареол и штрихов было малоизменчиво – увеличение солёности от 18 до 30 ‰ приводило лишь к небольшому расширению диапазонов и средних значений этих таксономических признаков (табл. 1 и 2). Диапазон варьирования признаков был разным при солёности 18 и 30 ‰ (рис. 3). При равной широте варьирования диапазонов признаков соотношение равно 1. Отметим, что по всем рассматриваемым характеристикам, за исключением диапазона длины инициальных клеток, рассчитанное соотношение оказалось меньше или равно 1. Это говорит о том, что диапазон варьирования большинства признаков при низкой солёности гораздо уже. В тоже время диапазон длины инициальных клеток у *N. longissima* оказался в 2 раза, а у *N. rectilonga* в 3.5 большим при низкой солёности. У диатомовых, как известно, продолжительность жизненного

цикла определяется размером клеток [21]. Таким образом, больший диапазон размеров инициальных клеток, полученных в условиях относительно низкой солёности, скажется не только на распределении размеров клеток в популяции, но и, как следствие, на большем разнообразии продолжительности жизненного цикла отдельных клонов в генерации. Характерный для *N. longissima* губообразный валик-утолщение по краю фибул [12] оказался консервативным признаком, неизменным при увеличении солёности.

Рис. 4 *Nitzschia rectilonga*. Центральная часть створок клеток у клонов, содержащихся при разной солёности (СЭМ): А – 18 ‰; Б – 30 ‰. Масштаб 2 мкм

Fig. 4 *Nitzschia rectilonga*. Central part of valves of cell grown at different salinities (SEM): A - 18 ‰; B - 30 ‰. Scale 2 μm

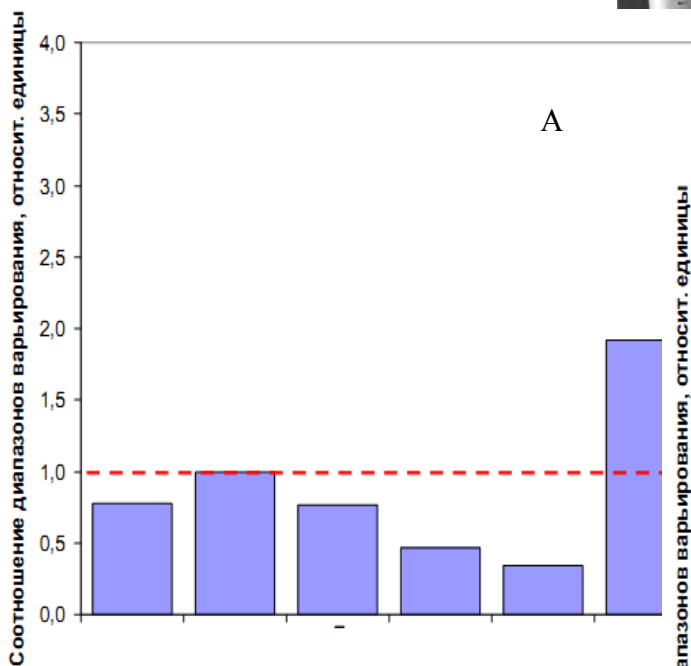
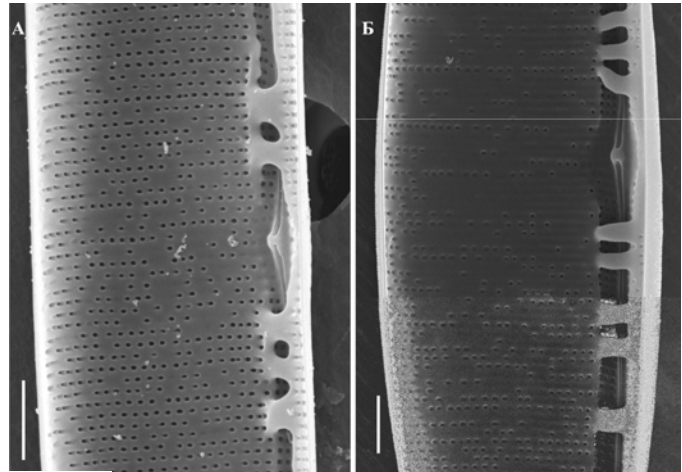
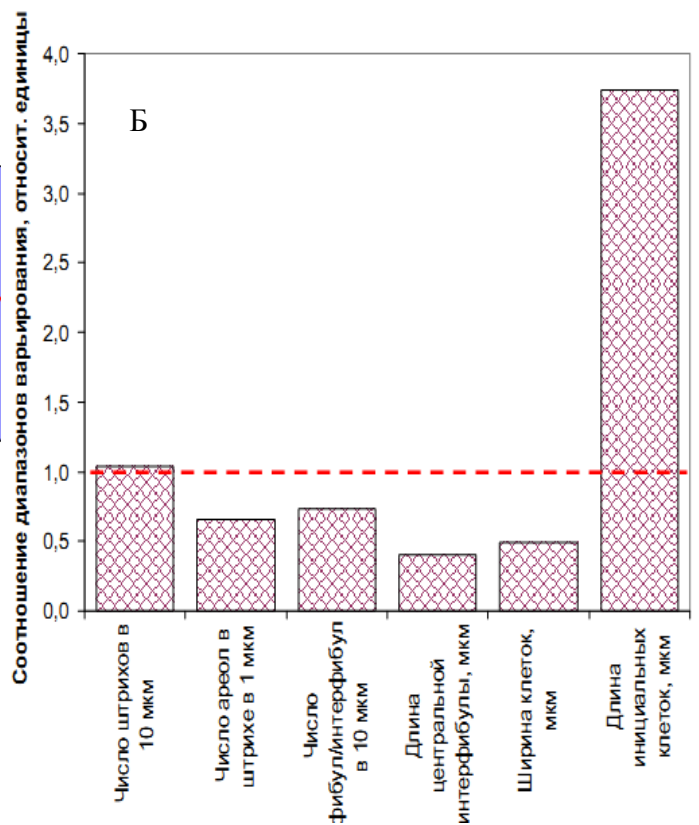


Рис. 5 Соотношение диапазонов варьирования признаков у *Nitzschia longissima* (А) и *N. rectilonga* (Б), содержащихся при разной солёности. Соотношение рассчитано как D18/D30, где D18 и D30 – широта варьирования признаков при солёности 18 и 30 ‰.

Fig. 5 The ratio between ranges of some characteristics of *Nitzschia longissima* (A) and *N. rectilonga* (B) maintained at different salinities. The ratio was calculated as D18/D30, where D18 and D30 are ranges obtained at salinities 18 and 30 ‰ correspondingly.



В контексте флористических исследований становится очевидной надёжность использования данного структурного элемента панциря для разграничения *N. longissima* и *N. rectilonga*. В исследованиях проведенных на

диатомовых из разных родов, было установлено [7, 8], что влияние солёности на морфологические структуры панциря носит неспецифический характер. Наши данные позволяют внести уточнение, касающееся близкородственных

видов, имеющих сходную структуру и форму панциря, которые изменяются одинаково в ответ на изменение солёности среды.

Заключение. Показано влияние повышения уровня солёности среды на морфологические элементы панцирей двух близких видов диатомовых водорослей – *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow 1862, *N. rectilonga* Takano 1983. Степень перфорированности панциря (относительная плотность расположения интерфибул, ареол, а также длина центральной интерфибулы) и ширина клеток у данных видов при почти двукратном повышении солёности увеличиваются, а число штрихов и длина инициальных клеток, уменьшаются. Для большинства рассматриваемых признаков диапазон варьирования больший у клеток, содержащихся в 18 ‰ среде. Широта варьирования размеров инициальных клеток, напротив, оказалась большей при содержании в 30 ‰ среде. Полученные сведения дополняют имеющиеся представления о влиянии солёности на рост ауксоспор диатомовых и позволяют судить о вероятных размерных характеристиках популяций вида в разных солёностях. Отметим, что наблюдаемый нами эффект влияния солёности не приводил к

значительным морфологическим изменениям клеток. Так, характерный для *N. longissima* губообразный валик-утолщение по краю фибул оказался консервативным видовым признаком, не подверженным воздействию повышения солёности. Этот признак, таким образом, может считаться одним из основополагающих в контексте таксономического разграничения указанных видов. Учитывая имеющиеся сведения о симпатрическом распространении и перекрывающихся видовых диагнозах, обнаруженное влияние солёности на морфологические элементы панцирей следует принимать во внимание при разграничении рассматриваемых видов.

Благодарности. Авторы выражают благодарность д-ру Дж. Эрману (Dr. James M. Ehrman, Digital Microscopy Facility, Mount Allison University, Canada) за любезно предоставленные электронно-микроскопические фотографии некоторых клонов, а также к.б.н. М. С. Куликовскому (ИБВВ РАН) за ряд ценных советов и замечаний. Работа выполнена в рамках проекта РФФИ «Филогеография и репродуктивные основы разграничения видов диатомовых водорослей» № 14-04-01406, а также частично при поддержке гранта РФФИ 13-04-90923 мол-ин-нр.

1. Гусяков Н.Е., Загордонец О.А., Герасимюк В.П. Атлас диатомовых водорослей бентоса северо-западной части Черного моря и прилегающих водоемов. – Киев: Наук. думка, 1992. – 112 с.
2. Генкал С.И., Куликовский М.С., Стенина А.С. Изменчивость основных структурных элементов некоторых видов рода *Navicula* (Bacillariophyta) // Биол. внутренних вод. – 2007. – № 2. – С. 20 - 25.
3. Давидович Н.А. Факторы, определяющие размер инициальных клеток у диатомовых водорослей // Физиол. раст. – 1994. – 41, № 2. – С. 250 - 255.
4. Давидович Н.А., Давидович О.И. Влияние солёности на размножение и воспроизведение некоторых видов диатомовых водорослей // Летопись природы: Том XXIII. 2006 г. / Под ред. к.б.н. А.Л. Морозовой. – Симферополь: Н. Орианда, 2008. – С. 344 – 352.
5. Давидович Н.А., Давидович О.И. Использование среды ESAW в опытах по изучению полового воспроизведения диатомовых водорослей // Карадаг-2009: Сб. науч. тр., посвящ. 95-летию Карадагской науч. ст. и 30-летию Карадагского природ. запов. НАНУ / Ред. А. В. Гаевская, А. Л.

- Морозова. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009. – С. 538 – 544.
6. Давидович Н.А., Давидович О.И. Влияние солёности на половое воспроизведение *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs // Альгология: Актуальные проблемы современной альгологии IV Междунар. конф.: Тез. докл., 23-25 мая 2012 г. – Киев, 2012. – С. 87 – 89.
7. Караева Н.И., Джафарова С.К. Морфология некоторых полигалобных диатомовых водорослей в связи с изменениями солёности // Бот. журн. – 1988. – 73, № 4. – С. 477 - 485.
8. Караева Н.И., Джафарова С.К. Экспериментальные исследования полигалобных Bacillariophyta в связи с солёностью среды // Альгология. – 1993. – 3, № 2. – С. 97 – 105.
9. Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли планктона Черного моря. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1955. – 223 с.
10. Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли бентоса Черного моря. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1963. – 244 с.
11. Шоренко К.И., Давидович Н.А. Репродуктивная совместимость клонов диатомовой водоросли

- Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs полученных из географически удаленных популяций // Альгология: Актуальные проблемы современной альгологии: Тез. докл. IV Междунар. конф., 23 – 25 мая 2012 г. – Киев, 2012. – С. 337 – 338.
12. Шоренко К.И., Давидович О.И., Давидович Н. А. К вопросам таксономии, репродукции и распространения *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow (Bacillariophyta) // Альгология. – 2013. – **23**, № 2. – С. 113 – 138.
 13. Шоренко К.И., Давидович Н.А., Давидович О.И., Куликовский М.С. *Nitzschia rectilonga* Takano (Bacillariophyta) – вид или видовой комплекс? // Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты: сб. статей II Междунар. научно-практ. конф. 12-14 ноября 2013 г. – Минск, 2013. – С. 125 – 128.
 14. Шоренко К.И., Давидович Н.А., Куликовский М.С. Изменчивость морфологических и структурных элементов панциря в генетически однородных и разнородных группах *Nitzschia rectilonga* Takano (Bacillariophyta) // Биология моря. – 2014. – **40**, 5. – С. 364 – 372.
 15. Balzano S., Sarno D., Ekooistra W.H.C. Effect of salinity on the grown rate and morphology of ten *Skeletonema* strains // J. Plant Res. – 2011. – **33**, 6. – P. 937 – 945.
 16. Fukuyo Y., Takano H., Chihara M., Matsuoka K. Red tide organisms in Japan. An illustrated taxonomic guide. – Tokyo: Uchida Rokakuho, 1990. – 430 pp.
 17. Håkansson H., Chepurinov V. A study of variation in valve morphology of diatom *Cyclotella meneghiniana* in monoclonal cultures: effect of auxospore formation and different salinity conditions // Diatom Res. – 1999 – **14**, № 2. – P. 251 – 272.
 18. Nagai S., Imai I. The effect of salinity of the size of the initial cells during vegetative cell of *Coscinodiscus wailesii* (Bacillariophyta) in culture // Diatom Res. – 1999 – **14**, № 2 – P. 337 – 342.
 19. Paasche E., Johansson S., Evensen D.L. An effect of osmotic pressure on the valve morphology of the diatom *Skeletonema subsalsum* (A. Cleve) Bethge // Phycologia. – 1975. – **14**, № 4. – P. 205 – 211.
 20. Roubex V., Lancelot Ch. Effect of salinity on grown, cell size and silicification of an euryhaline freshwater diatom: *Cyclotella meneghiniana* Kütz. // Transit. Waters. Bull. – 2008. – **1**. – P. 31 – 38.
 21. Round, F.E., Crawford, R.M., Mann, D.G. The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera. Cambridge University Press, Cambridge, 1990. – 747 pp.
 22. Trobajo R., Rovira L., Mann D.G., Cox E.J. Effect of salinity on grown and on valve morphology of five estuarine diatoms // Phycol. Res. – 2011. – **59**, 2. – P. 83 – 90.

Поступила 19 марта 2014 г.
После доработки 16 июня 2014 г.

Вплив солоності на морфологічні характеристики двох близьких видів діатомових водоростей *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow і *N. rectilonga* Takano. К. І. Шоренко, Н. А. Давидович, О. І. Давидович. Розглянуто вплив солоності на морфологічну мінливість панцирів двох близьких видів діатомових водоростей із Чорного моря: *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow і *N. rectilonga* Takano. Показано вплив рівня солоності на перфорування панциря та інші таксономічні ознаки. Встановлений факт необхідно враховувати при ідентифікації видів роду *Nitzschia*, що мають близькі діагнози.

Ключові слова: діатомові водорості, морфологія, солоність, *Nitzschia longissima*, *Nitzschia rectilonga*.

Effect of salinity on the morphological characteristics of the two closely related species of diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow and *N. rectilonga* Takano. К. І. Шоренко, Н. А. Давидович, О. І. Давидович. Effect of salinity on the valve morphology of the two closely related diatom species from the Black Sea, *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow and *N. rectilonga* Takano, was considered. Valve perforation increased at higher salinity. The fact should be considered when identifying these species.

Key words: diatoms, morphology, salinity, *Nitzschia longissima*, *Nitzschia rectilonga*.