

На правах рукописи

ПУРИНА ЕЛЕНА СЕРГЕЕВНА

**ЭКОЛОГИЯ И ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПОЧВЕННОЙ
ВОДОРОСЛИ *KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM* (KUTZ) SILVA ET ALL
(CHLOROPHYTA)**

Специальность 03.00.16 – экология

03.02.01 - ботаника

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Уфа

2009

Работа выполнена на кафедре ботаники, биоэкологии и ландшафтного проектирования
ГОУ ВПО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы»

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор Кабиров Рустэм Расшатович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор Хазиев Фангат Хамматович
доктор биологических наук,
профессор Кузяхметов Григорий Гильмиярович

Ведущая организация: Вятская государственная сельскохозяйственная академия

Защита диссертации состоится «30» октября 2009 г. в 14-00 часов на заседании
Объединённого диссертационного совета ДМ 002.136.01 при Институте биологии Уфим-
ского научного центра РАН по адресу: 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 69. Тел. /факс
(3472) 35-53-62. E-mail: ib@anrb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии научного
центра РАН

Текст автореферата размещён на сайте ИБ УНЦ РАН

<http://www.anrb.ru/inbio/dissovet/index.htm>

« »

2009 г.

Автореферат разослан « » 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Р.В. Уразгильдин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Почвенные водоросли являются обязательным компонентом любой наземной экосистемы. Развиваясь на поверхности и в толще почвенного слоя, они оказывают влияние на ее физико-химические свойства (изменяют pH, усиливают аэрацию, препятствуют эрозии и т.д.), активно участвуют в жизнедеятельности любой экосистемы, хотя их размеры могут быть очень небольшими по сравнению с интенсивной активностью, которую они проявляют [Кабилов, 1991; Рыжов, Ягодин, 2000]. Как автотрофные организмы, водоросли синтезируют дополнительные количества органического вещества, участвующего во многих почвенно-биологических процессах. Водоросли, являясь постоянным компонентом почвенного микронаселения, играют существенную роль в процессах самоочищения почвы и могут использоваться в качестве биоиндикаторов ее состояния [Кабилов, 1986].

Вид *Klebsormidium flaccidum* (Kutz) Silva et al – зеленая нитчатая водоросль, типичный представитель почвенной альгофлоры. Легко идентифицируется, часто встречается в альгосинузиях пахотных почв и обычно составляет основу доминирующего комплекса [Кабилов, 1983; Кабилов, Любина, 1988]. Встречается не только на территории России, но и по всему земному шару. Хотя и просматривается широкое распространение вида, однако биологические и экологические особенности изучены еще не до конца и требуют дальнейшего изучения.

Цель и задачи исследования. Целью исследований явилось изучение экологии, географического распространения и морфометрических характеристик природных популяций зеленой нитчатой водоросли *Klebsormidium flaccidum* (Kutz) Silva et al и оценка ее устойчивости к естественным и антропогенным экологическим факторам.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать вариабельность морфометрических признаков популяций *K. flaccidum* при лабораторном культивировании.
2. Рассмотреть географическое распространение почвенной водоросли *K. flaccidum*.
3. Определить характер воздействия абиотических и антропогенных факторов на морфологические признаки *K. flaccidum*.
4. Установить границы устойчивости *K. flaccidum* к экологическим факторам.

Научная новизна. Впервые проведено исследование влияния широкого спектра экологических факторов на морфологию и биологию *K. flaccidum*. Установлены границы устойчивости к абиотическим и антропогенным факторам. Выявлены интервалы напряженно-

сти исследованных факторов, при которых *K.flaccidum* сохраняет свой морфологический статус.

Практическая значимость работы. Полученные данные дополняют знания по биологии и экологии вида *K.flaccidum*. Сведения о границах устойчивости к экстремальным экологическим факторам природного и антропогенного происхождения позволят использовать полученные данные при чтении лекционных курсов «Систематика низших растений», «Экология растений».

Апробация. Материалы исследований докладывались на Всероссийской научно-практической конференции «Совершенствование преподавания биологии и химии в ВУЗе и школе» (Бирск, 2003), VIII Всероссийской научно-практической конференции студентов, соискателей, молодых ученых и специалистов «Наука и молодежь» (Н.Новгород, 2007), Всероссийской научно-практической конференции «Общие проблемы мониторинга природных экосистем» (Пенза, 2007), XXIV Всероссийском научно - практическом междисциплинарном семинаре «Проблемы радиоэкологии и пограничных дисциплин» (Бирск, 2007), II Всероссийской научно-практической конференции «Растительные ресурсы: опыт, проблемы и перспективы» (Бирск, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ, из которых 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 5 глав, выводов, списка литературы (155 наименований, в том числе 131 на русском, 24 на иностранных языках) и приложения. Общий объем работы составил 140 страниц, в том числе 102 страницы основного текста, 24 таблицы, 53 рисунка.

ГЛАВА I. ЭКОЛОГИЯ И ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИДА *KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM* (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В главе обсуждается роль водорослей в биосфере, влияние водорослей на другие компоненты почвенной и водной экосистем, возможность использования водорослей в качестве индикаторов окружающей среды. Рассматривается общая характеристика отдела *Chlorophyta*, обсуждаются вопросы анатомического, морфологического строения вида *K.flaccidum*, история изучения вида, географическое распространение на территории России и бывшего СССР и связь зеленых водорослей с высшими растениями. Рассматривается диагноз вида *K.flaccidum*, приводятся данные его таксономии. В связи с тем, что до конца таксономический статус не установлен и постоянно ведется его рассмотрение, мы будем придерживаться общепринятой номенклатурой и классификацией зеленых водорослей по И.Ю. Костинову [Костіков др., 2006], Стюарту и К.Мэттоксу [Stewart, Mattox,

1975], согласно которой отдел Chlorophyta делится на два класса. Класс Charophyceae с порядками Klebsormidiales, Zygnematales, Coleochaetales, Charales и класс Chlorophyceae с порядками Volvocales Chlorococcales, Microsporales, Ulvales, Chaetophorales, Oedogoniales.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объект исследований – *K. flaccidum*, выделен с пробы почвы Зианчуринского района в 2 км от д. Биктау и переведён в музейную культуру. Культуру выращивали на косяках и чашках Петри с использованием жидкой и агаризованной питательной среды Бристоль и Болда в модификации Голлербаха [Голлербах, Штина, 1969; Штина, Голлербах, 1976].

Изучали влияние каждого фактора на размерные признаки водоросли (длину нитей, длину и ширину клеток) и описывали морфологические нарушения. Во всех опытах описывали по 100 нитей и клеток. Использовали культуру двухнедельного возраста, находящуюся в стационарной фазе роста.

Измерения проводили методом прямого микроскопирования с помощью светового микроскопа серии Ломо Микмед-1 (объектив $\times 40$, апертура 0,65) при помощи окуляр - микрометра 510. Микрофотографии выполнялись с использованием фотоаппарата Canon A95 с фотонасадкой при увеличении 40 (апертура 0,65).

При статистической обработке результатов исследований использовали среднюю арифметическую ошибку, медиану, стандартное отклонение и значение коэффициента вариации [Лакин, 1990]. Коэффициент вариации рассчитывали по формуле:

$cv = S_x / X \times 100\%$, где cv - коэффициент вариации, S_x - стандартное отклонение, X - средняя арифметическая.

Для оценки уровня изменчивости на основании коэффициента вариации использовали шкалу А. С. Мамаева (1968), согласно которой выделяли 3 уровня изменчивости, отражающей разнообразие растительных организмов:

- 1) пониженный - коэффициент вариации (cv) $< 15\%$; 2) средний ($cv = 15-25\%$);
- 3) повышенный ($cv > 25\%$).

Достоверность результатов исследований определяли с помощью критерия Стьюдента [Урбах, 1963; Лакин, 1990]. При обработке результатов использовали компьютерную программу Statistika (STA_BAS.EXE).

Кроме морфометрического исследования использовали показатель индекса интегральной токсичности (ИИТ), который показывает степень токсичности или стимулирующее действие исследуемого фактора.

Для численного обозначения степени нарушенности протопласта при влиянии положительных температур и реакции среды использовали коэффициент показателя состояния клеток (ПС) [Павлов, 1995].

ГЛАВА III. ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *K. FLACCIDUM*

В данной главе дается описание популяций выделенных из природных местообитаний и переведенных в культуру. Всего было выделено нами в культуру 7 популяций вида *Klebsormidium flaccidum* (№9, №5, №7, №15, №IX, №VI, №VII), 1 популяция предоставлена Гайсиной Л.А. (GSM 2Н) и 7 популяций были предоставлены Киевским государственным университетом (АСКУ 609-06, АСКУ 608-06, №600, №58, №59, АСКУ 604-06, АСКУ 607). Лабораторные популяции культивировались в жидкой и на твердой питательной среде Болда. Пересев культуры производили через месяц в жидкой питательной среде и через 2 месяца на агаризированной среде.

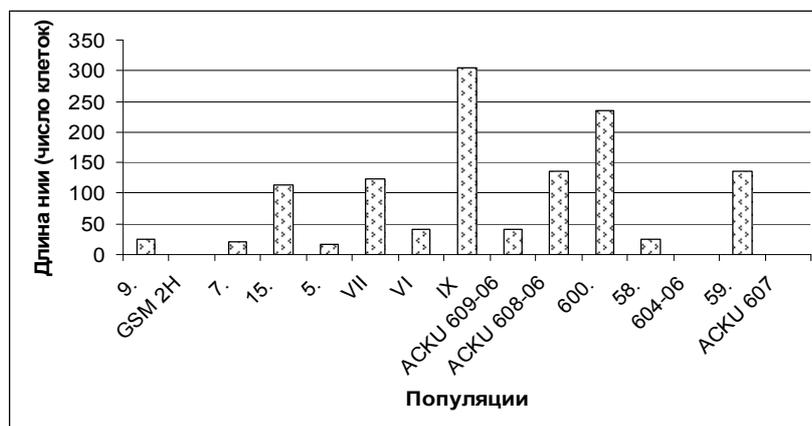


Рис. 1. Длина нитей лабораторных популяций.

Примечание: популяция GSM 2Н – одиночные нити; популяции №604-06 и АСКУ 607 – очень длинные нити, которые не удалось измерить используемым методом.

По данным рисунка 1 наименьшая длина нити (1 клетка) наблюдалась в популяции GSM 2Н. Наибольшая длина нити наблюдалась у популяций 604-06 и популяции АСКУ 607, насчитывающая несколько тысяч клеток, это связано с тем, что популяции довольно долго находились в культуре. Если же сравнивать по длине нитей лабораторные популяции *K. flaccidum* обнаруженные в России, то наибольшая длина наблюдалась в популяции IX (Байкал) и составляла более 300 клеток. Так же достаточно большие нити у популяции 15 с о. Байкал и составляли 112 клеток. У популяции VII (Демский район г.Уфы) тоже длинные нити, причем в пробе, взятой в 20 м от дороги, а в популяции VI (Демский район г.Уфы), взятой в 10 м от дороги, нити намного короче, скорее всего, имело место загрязнение (трасса довольно оживленная). Наименьшее количество клеток в нити из проб Республики Башкортостан у популяции 5 выделенной из почвы Абзелиловского района, воз-

можно, это связано с тем, что довольно близко расположен г. Магнитогорск, с находящейся на его территории металлургической промышленностью, что говорит о неблагоприятной экологической обстановке.

При изучении морфометрической изменчивости *K. flaccidum* в большей степени выражена изменчивость длины нитей, наименьшая изменчивость просматривается при ширине клеток.

ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ И АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОЧВЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM* (KUTZ) SILVA ET ALL

4.1. Влияние температуры

Изучали влияние положительных температур от 20⁰С до 100⁰С с интервалом в 10⁰С на морфометрические показатели (табл. 1) и состояние нарушенности протопласта *K. flaccidum*. Наиболее полная картина просматривалась на 14-й день.

Таблица 1.

Влияние температуры на статистические показатели размерных признаков *Klebsormidium flaccidum* 14-й день

Температура (°С)	X _{min}	X _{max}	X ± S _x	σ	Me	cv, %	t _{факт}
Длина нитей, выраженная числом клеток							
20°(контр.)	4,00	305,00	132,40±10,62	75,09	149,00	56,71	-
30°	4,00	305,00	48,90±7,75	54,80	31,50	112,07	5,86*
40°	5,00	216,00	45,50±7,16	50,61	30,50	111,23	8,18*
50°	4,00	310,00	65,92±9,66	68,31	48,00	103,63	4,17*
Длина клеток, мкм							
20°(контр.)	5,10	13,60	9,28±0,24	1,72	8,50	18,53	-
30°	5,10	13,60	8,57±0,23	1,61	8,50	18,79	2,10
40°	5,10	17,00	9,28±0,35	2,46	8,50	26,51	0,00
50°	5,10	11,90	8,74±0,15	1,09	8,50	12,47	2,03
Ширина клеток, мкм							
20°(контр.)	5,10	6,80	6,32±0,11	0,77	6,80	12,18	-
30°	5,10	8,50	3,12±0,13	0,91	6,80	14,87	1,18
40°	5,10	8,50	3,46±0,11	0,77	6,80	11,92	0,81
50°	5,10	6,80	6,02±0,12	0,86	6,80	14,29	1,77

Примечание: * - разница между контролем и опытом достоверна, при P=0,05.

При t=60⁰-100⁰С происходило полное разрушение и обесцвечивание содержимого клеток, что привело к гибели культуры. При 50⁰С наблюдалась частичная грануляция цитоплазмы и деформация нитей. Длина нитей по сравнению с контролем уменьшилась и в интервале температур 30⁰-50⁰С оставалась примерно на одном уровне. Длина клеток по сравнению с контролем варьировала в небольших пределах. Ширина клеток при действии 30⁰С и 40⁰С значительно уменьшилась, а при действии 50⁰С составила примерно такую же

ширину клеток как в контроле. С увеличением температуры наблюдались морфологические изменения клетки и происходили нарушения протопласта, наибольшая нарушенность наблюдалась при $t=100^{\circ}\text{C}$ и составила 3 балла.

4.2. Реакция среды

Изучали влияние значений pH от 2 до 12 (с интервалом 0,5) на анатомические и морфометрические характеристики *K. flaccidum*. Контролем служила жидкая питательная среда Бристоль (в модификации Голлербаха) [Голлербах, 1936] с pH=5.

Для изменения pH использовали 0,1 н. растворы HCl и NaOH.

Таблица 2.

Влияние pH на статистические показатели размерных признаков *Klebsormidium flaccidum*

pH	X_{\min}	X_{\max}	$X \pm S_x$	σ	Me	cv, %	$t_{\text{факт}}$
Длина нитей, выраженная числом клеток							
5 (контр.)	4,00	104,00	47,08±0,09	28,94	46,00	61,47	-
3,5	4,00	57,00	17,96±1,79	12,69	15,00	70,66	6,74*
4	4,00	62,00	22,28±2,36	16,71	18,00	75,00	5,40*
4,5	4,00	93,00	34,40±2,90	20,49	30,00	59,56	2,64*
5,5	5,00	67,00	28,48±2,38	16,82	23,00	59,06	3,77*
6	5,00	68,00	28,52±2,58	18,24	26,00	63,96	3,52*
6,5	10,00	71,00	37,16±2,62	18,55	31,00	49,92	2,70*
7	4,00	41,00	21,60±1,41	9,96	20,00	46,11	5,47*
7,5	6,00	63,00	28,44±2,15	15,19	25,00	53,41	3,85*
8	8,00	42,00	22,20±1,45	10,23	20,00	56,08	5,60*
8,5	6,00	60,00	22,84±1,70	12,00	21,00	52,54	5,70*
Длина клеток, мкм							
5(контр.)	6,80	10,20	8,23±0,16	1,16	8,50	14,09	-
3,5	6,80	17,00	11,63±0,47	3,32	10,20	28,55	10,10*
4	6,80	11,90	9,52±0,23	1,61	10,20	16,91	12,46*
4,5	3,40	13,60	9,25±0,44	3,11	8,50	33,62	3,24*
5,5	5,10	11,90	9,08±0,29	2,08	8,50	22,91	5,22*
6	5,10	10,20	8,09±0,20	1,40	8,50	17,31	2,06
6,5	3,40	10,20	7,00±0,29	2,02	6,80	28,86	6,98*
7	5,10	15,30	8,50±0,31	2,23	8,50	26,24	1,43

7,5	6,80	11,90	8,98±0,21	1,50	8,50	16,70	6,20*
8	3,40	8,50	6,77±0,25	1,77	6,80	26,14	8,69*
8,5	5,10	8,50	7,55±0,17	1,20	8,50	15,89	5,72*

Примечание: “*” - разница между контролем и опытом достоверна, при $P=0,05$; значение $pH=5$ соответствует стандартному значению среды Бристоуль (в модификации Голлербаха).

Значения $pH=2-3$ (кислая среда) и $9-12$ (щелочная среда) вызвали деформацию клеток и полное разрушение внутриклеточного содержимого, что привело к гибели культуры (табл. 2).

В пределах диапазона $pH=3,5-4,5$, при $pH=5,5$, а так же в пределах $pH=7-7,5$ происходило увеличение клеток в длину по сравнению с контролем, остальные значения pH приводили к уменьшению длины клеток.

Все значения pH привели к уменьшению числа клеток в нити, по сравнению с контролем. В кислой среде происходило уменьшение числа клеток равномерно, а вот щелочная среда привела к скачкообразному уменьшению длины нитей, причем наименьшая длина нитей наблюдалась при $pH=7$ и $pH=3$. При $pH=4,5-5,5$ значительных морфологических нарушений не наблюдалось. Исследования показали, что даже незначительные изменения в сторону подкисления или подщелачивания привели к линейным (длина нитей, длина клеток) и морфологическим изменениям клеток и протопласта, только на ширину клеток изменения pH среды не повлияло. Значения нарушенности протопласта варьировали в зависимости изменения реакции среды. Щелочная среда $pH=7,5$ привела к усиленному спорообразованию.

4.3. Влияние тяжелых металлов

Изучали влияние хлоридов меди, никеля и марганца на морфологические признаки водоросли *K. flaccidum*. Медь испытывали в концентрациях $1 \times 10^{-2} - 10^{-10}$ моль/л, никель - 1×10^{-6} моль/л, марганец - 1×10^{-4} моль/л. Металлы вносили в виде следующих солей: $CuCl_2 \times 5H_2O$, $MnCl_2 \times 4H_2O$, $NiCl_2 \times 6H_2O$.

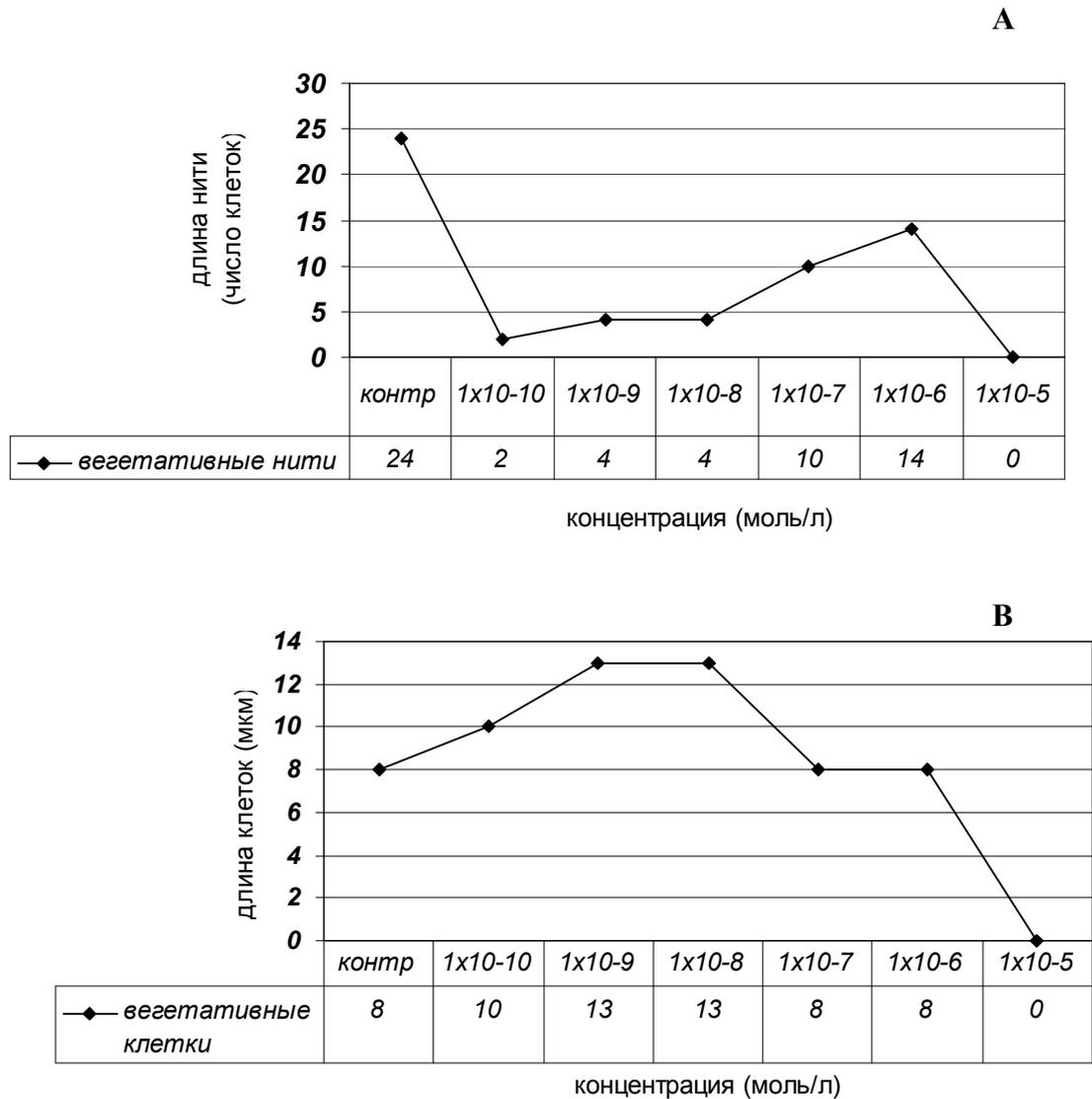


Рис 2. Влияние хлорида меди на линейные признаки *K. flaccidum*.

A – длина нити; B – длина клеток.

Было установлено, что CuCl_2 в концентрациях $1 \times 10^{-2} - 1 \times 10^{-5}$ моль/л вызывал полное разрушение и гибель клеток, при этом наблюдались бесформенные клетки с сильно нарушенным протопластом. При концентрации хлорида меди 1×10^{-10} моль/л происходила фрагментация нити по 2 клетки. С ростом концентрации металла отмечались колебания изменчивости длины нитей. При действии хлорида меди наблюдалось стимулирующее влияние на длину клеток или же длина клеток сохранялась в пределах нормы (рис. 2).

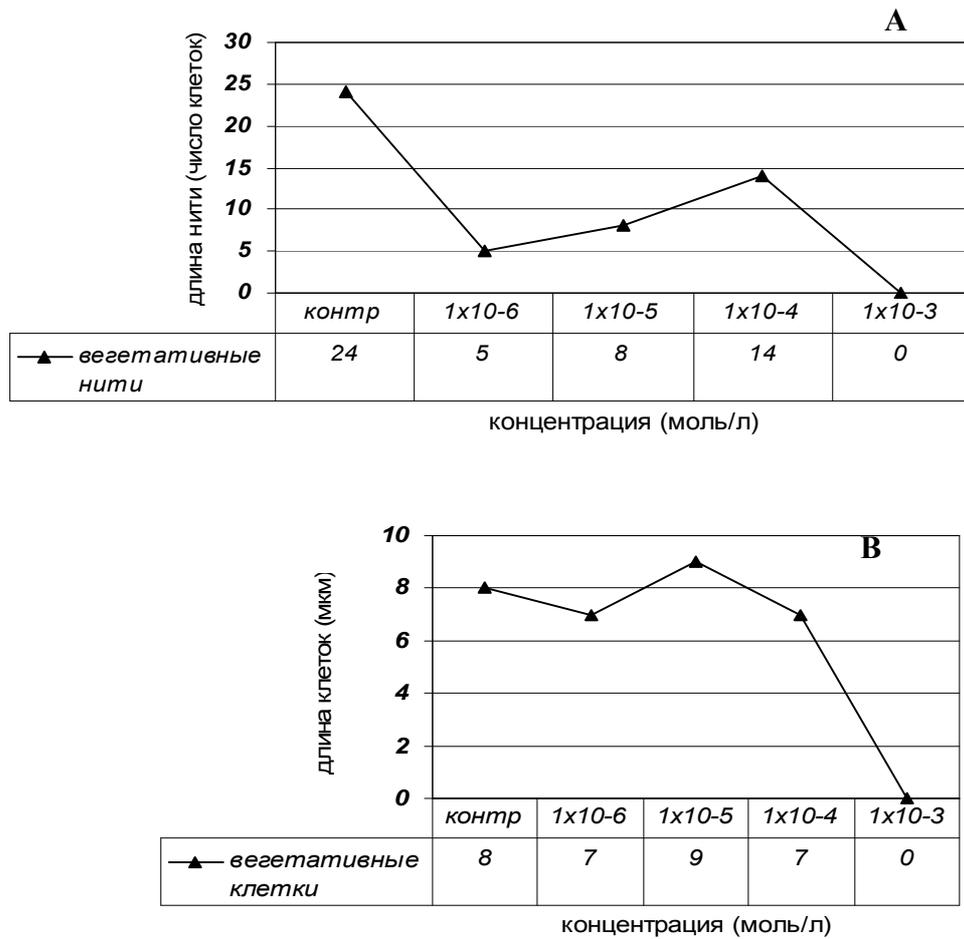
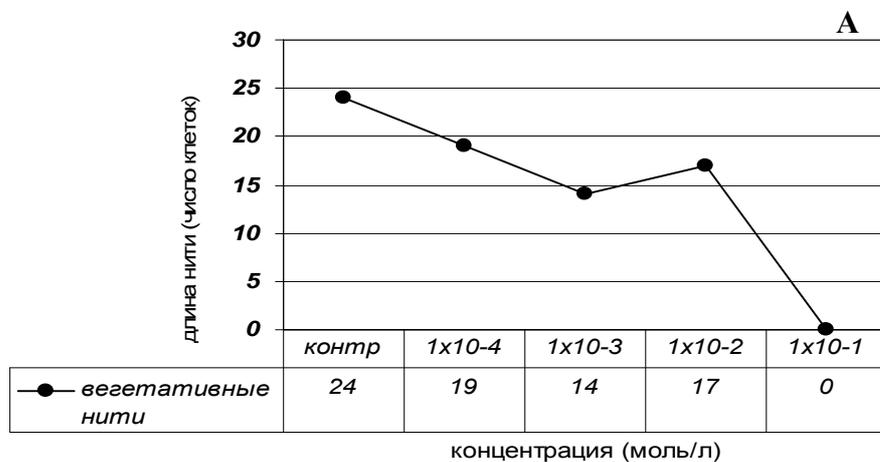


Рис. 3. Влияние хлорида никеля линейные признаки *K. flaccidum*.

A – длина нити; B – длина клеток.

Соль никеля в концентрациях $1 - 1 \times 10^{-3}$ моль/л вызывала полное разрушение клеточного содержимого и гибель культуры. При минимальных значениях концентрации хлорида никеля наблюдалось снижение числа клеток в нити, а с увеличением концентрации количество клеток в нити возрастало, а при концентрации 1×10^{-5} моль/л наблюдалось увеличение длины клеток по сравнению с контрольным значением (рис. 3).



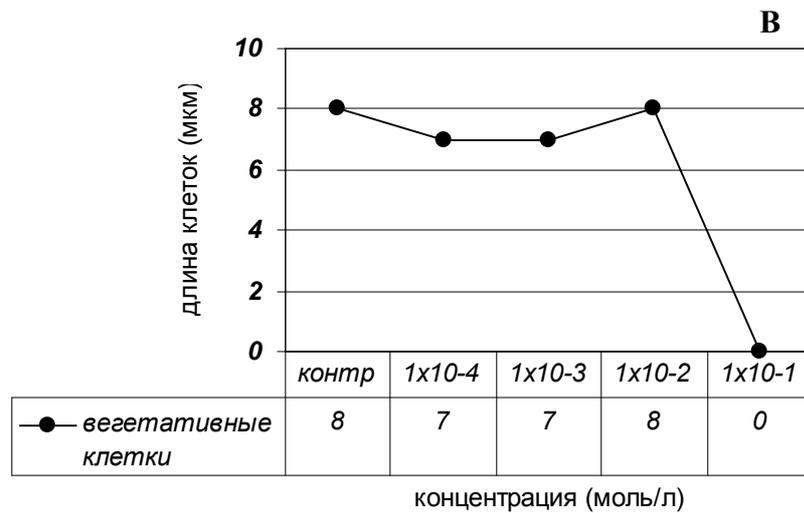


Рис. 4. Влияние хлорида марганца на размерные признаки *K. flaccidum*.

А-длина нити; В – длина клеток.

Хлорид марганца концентрацией 1×10^{-4} моль/л вызывал образование апланоспор.

Высокие концентрации хлорида марганца вызывали разрушение клеточного содержимого, обесцвечивание хлоропластов и разрушение клеточной оболочки, что привело к гибели культуры.

При действии хлорида марганца концентрацией 1×10^{-4} и 1×10^{-3} моль/л происходило уменьшение длины нитей, а при действии концентрации 1×10^{-2} происходило увеличение числа клеток в нити. С увеличением концентрации наблюдалось увеличение длины клеток и при концентрации 1×10^{-2} моль/л она достигала контрольного значения (рис. 4).

Исследования показали, *Klebsormidium flaccidum* проявил высокую чувствительность к исследованным металлам. Действие ионов различных металлов проявлялось в изменении морфологических показателей клеток, которые в дальнейшем приводили к их гибели, укорачиванию длины нити. Было установлено, что для данного вида почвенной зеленой водоросли наименее опасными являются ионы марганца, а наибольшее повреждение вызывают ионы меди. Ионы никеля в данном случае занимают промежуточное положение, и в связи с этим ряд токсичности металлов имеет следующий вид: $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Mn}$.

4.4. Засоление

Было рассмотрено влияние засоления на морфометрию *K. flaccidum* и выбраны следующие соли в качестве реагентов NaCl и Na_2CO_3 , как наиболее распространённые соединения в солончаках и солончаковатых почвах природного и антропогенного происхождения [Химическое загрязнение..., 1981; Почвы Башкортостана, Т.2, 1997; Хазиев, 2007]. NaCl испытывали в концентрациях - 2×10^{-2} ; $3,5 \times 10^{-1}$; 5×10^{-1} ; 7×10^{-1} ; 1; 1,5 моль/л;

Na_2CO_3 - 1×10^{-2} ; 1×10^{-3} ; 5×10^{-2} ; 5×10^{-3} ; 5×10^{-4} моль/л. В качестве контроля использовали питательную среду.

При внесении NaCl концентрацией 2×10^{-2} моль/л наблюдалась гранулированность и причудливые формы (края изрезаны) хлоропласта, уменьшение длины нитей и образование апланоспор.

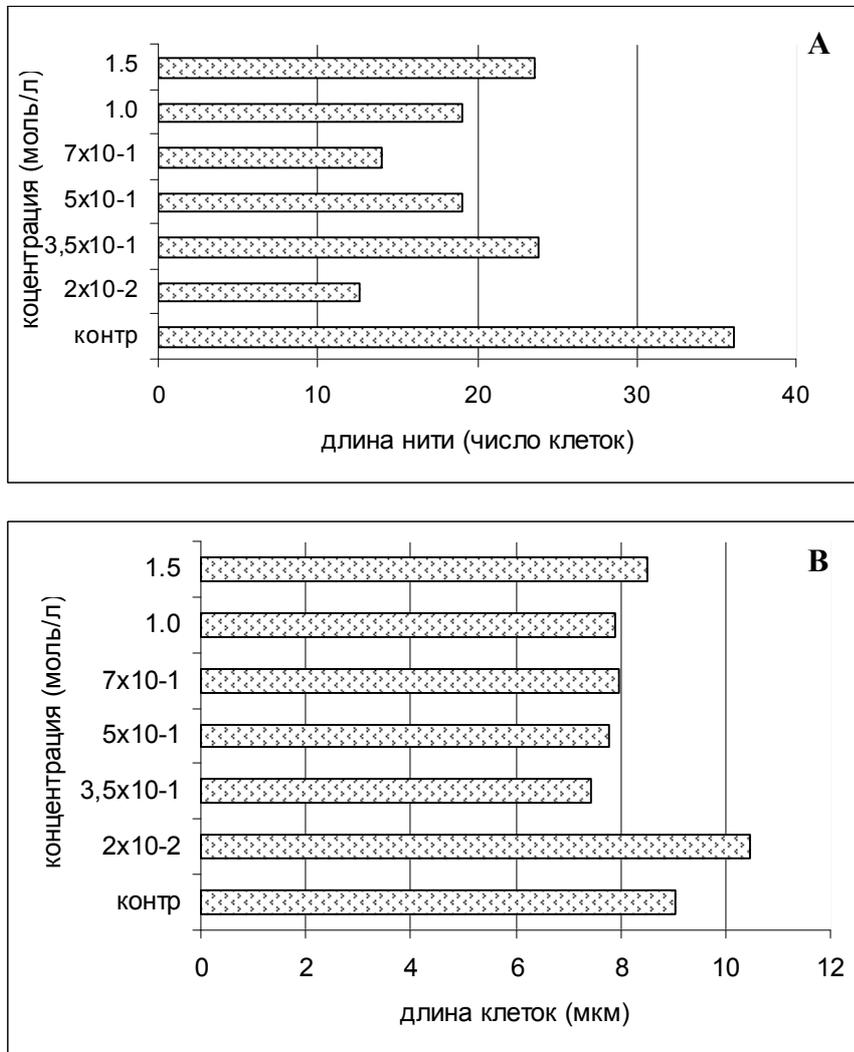


Рис.5. Влияние хлорида натрия на морфометрические показатели *K. flaccidum*.

A – длина нити; B – длина клеток.

NaCl концентрацией $3,5 \times 10^{-1}$ моль/л вызывал деформацию протопласта (отхождение к центру клетки). Хлорид натрия концентрацией 2×10^{-2} моль/л вызывал стимуляцию длины клеток, что превышало контрольное значение (рис. 5).

Na_2CO_3 1×10^{-3} моль/л привел к сильной грануляции хлоропласта, что не дало возможности подсчитать длину клеток, а соответственно и длину нитей.

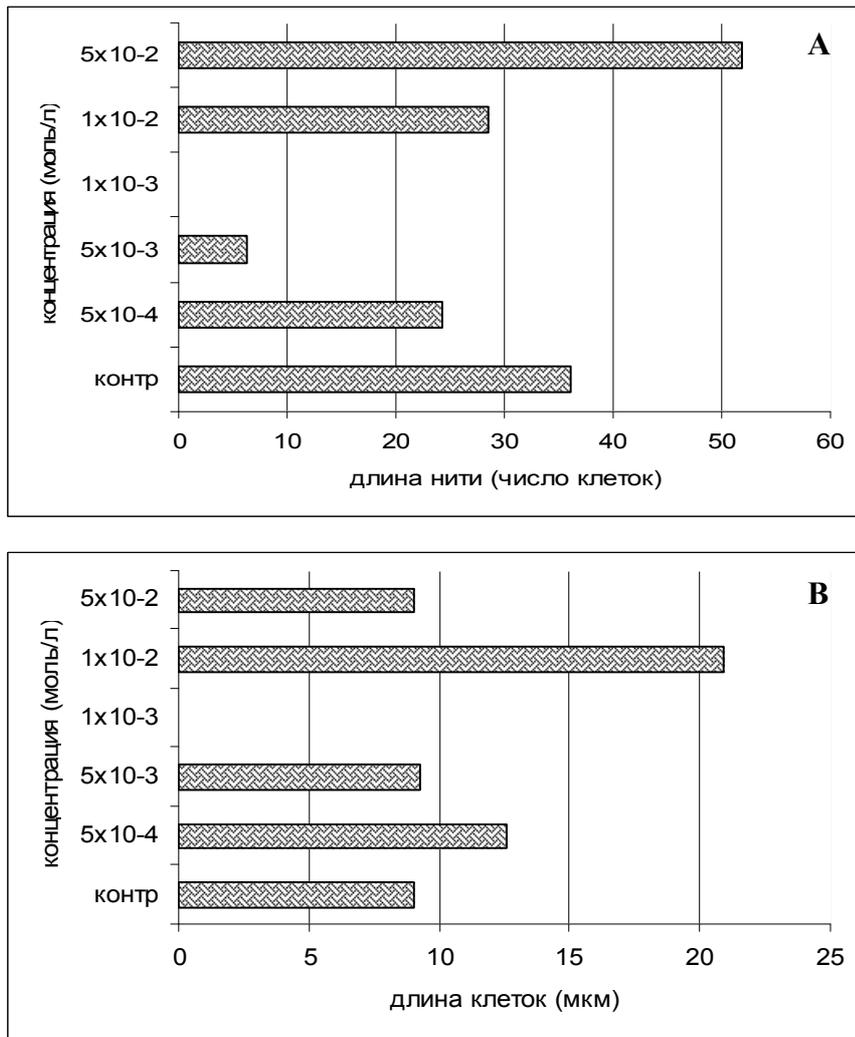


Рис. 6. Влияние карбоната натрия на морфометрические показатели *K. flaccidum*.

А – длина нити; В – длина клеток.

Карбонат натрия с концентрацией 5×10^{-2} моль/л вызывал увеличение числа клеток в нити по сравнению с контролем, но не повлиял на длину и ширину клеток по линейным значениям, однако оказал среднее стимулирующее действие на длину клеток и не оказал существенного влияния на ширину клеток. Концентрация Na_2CO_3 1×10^{-2} моль/л повлияла на уменьшение числа клеток в нити, но в то же время приводила к увеличению длины и ширины клеток. Концентрации Na_2CO_3 5×10^{-4} и 5×10^{-3} моль/л вызывали уменьшение длины нити, увеличение длины клеток, а на ширину клеток не повлияли (рис. 6).

При рассмотрении вопроса о действии засоления на *K. flaccidum* нами было доказано, что наиболее токсичным оказался карбонат натрия (Na_2CO_3), по сравнению с хлоридом натрия.

4.5. Удобрения

Были проведены эксперименты по изучению влияния хлорида калия, суперфосфата простого, мочевины на морфологические и линейные показатели *K. flaccidum*. Выбор оп-

ределялся тем, что данные удобрения широко используются в сельском хозяйстве. Удобрения испытывали в следующих концентрациях: $\text{KCl} - 1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-2}, 1 \times 10^{-3}, 3 \times 10^{-1}, 5 \times 10^{-2}, 5 \times 10^{-3}$; $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O} - 2 \times 10^{-3}, 2 \times 10^{-4}, 4 \times 10^{-4}, 4 \times 10^{-5}$; $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 - 2 \times 10^{-1}, 2 \times 10^{-2}, 2 \times 10^{-3}, 5 \times 10^{-1}, 8 \times 10^{-1}, 8 \times 10^{-2}, 8 \times 10^{-3}, 1,7$ (моль/л действующего вещества).

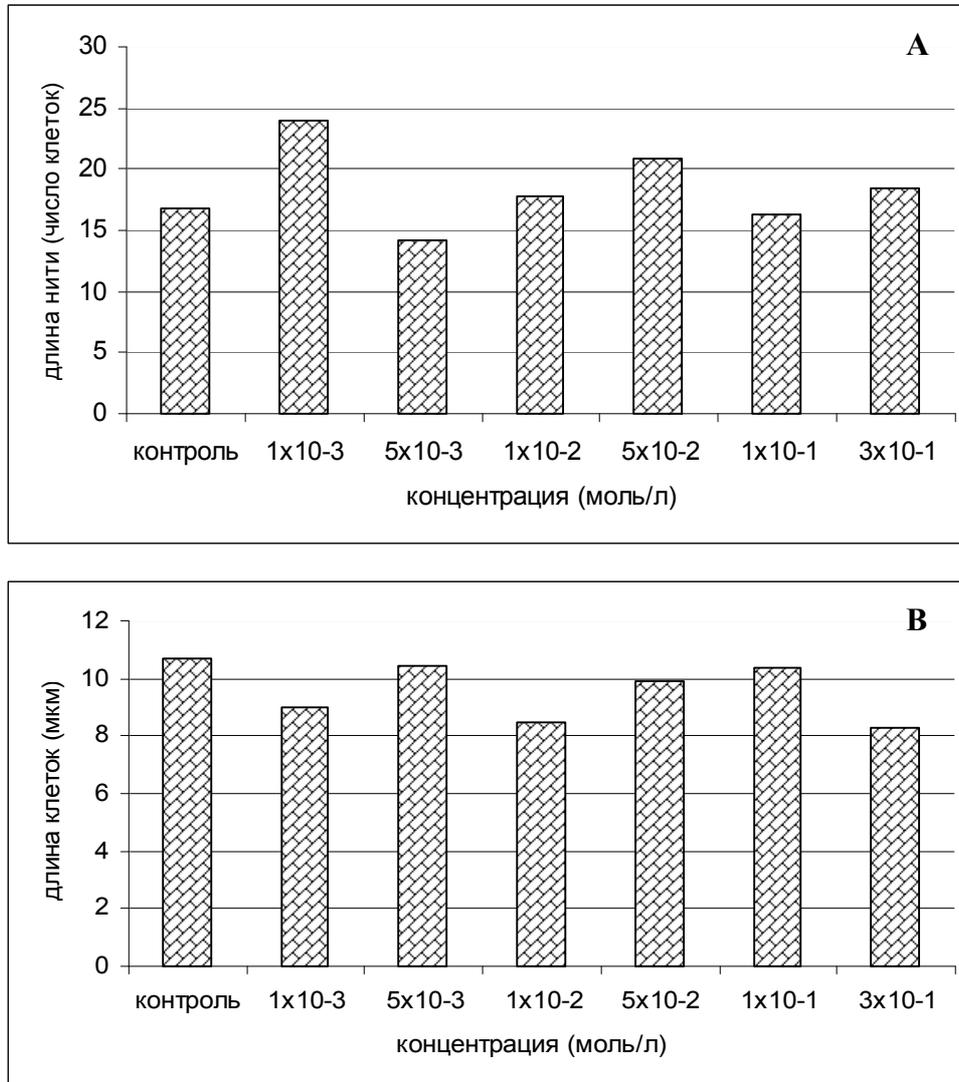


Рис. 7. Влияние хлорида калия на размерные признаки *K. flaccidum*.

А – длина нити; В – длина клеток.

Хлорид калия при концентрации 1×10^{-3} и 5×10^{-2} моль/л вызывал сильный скачек увеличения числа клеток в нити, однако происходило уменьшение длины и ширины клеток, а при концентрации 5×10^{-2} моль/л наблюдалось нарушение клеточной стенки у 10%, плохо виден пиреноид, грануляция хлоропласта, концевые клетки вздуты. Наименьшая длина нити наблюдалась при концентрации 5×10^{-3} моль/л, однако на длину нити данная концентрация оказала незначительное действие. Концентрация 5×10^{-2} моль/л стимулирующе действовала на ширину клеток (рис. 7).

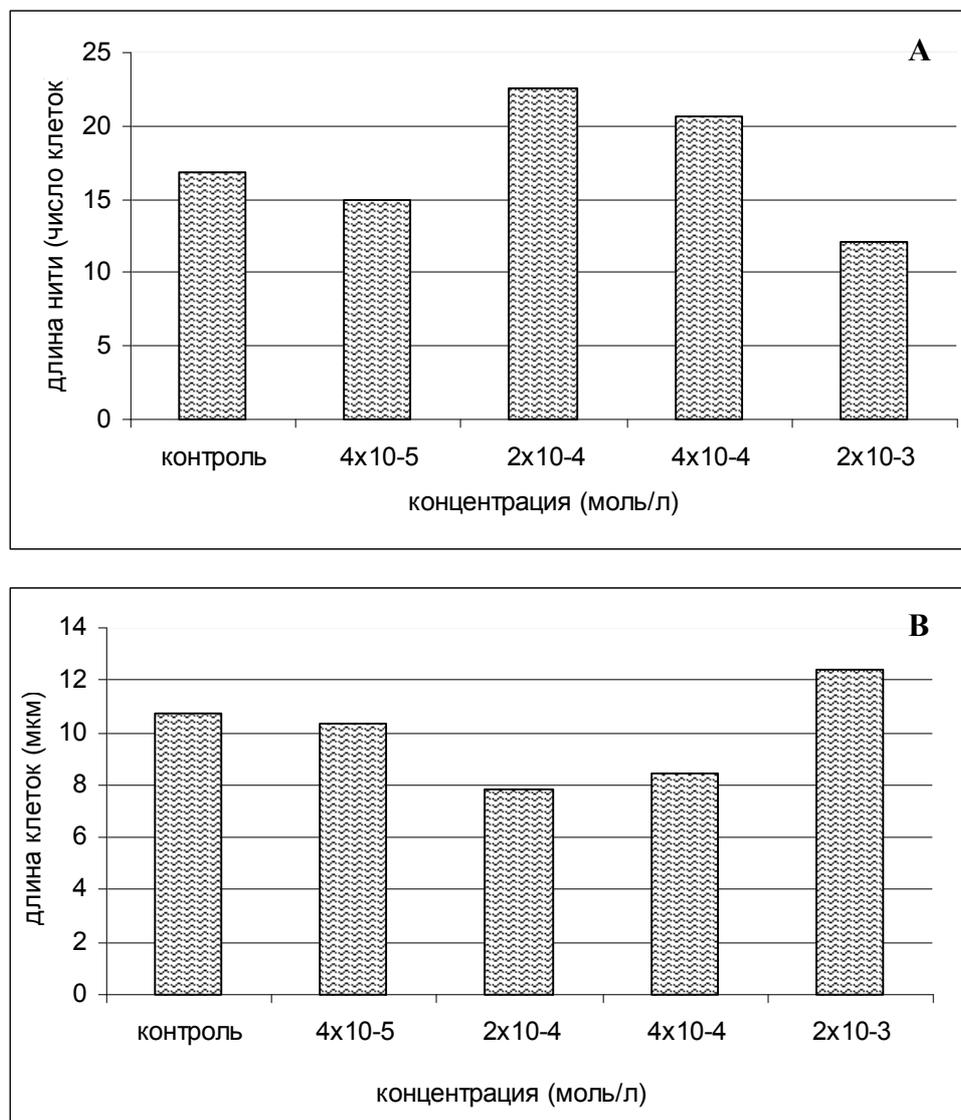


Рис. 8. Влияние простого суперфосфата на размерные признаки *K. flaccidum*.

А – длина нити; В – длина клеток.

Простой суперфосфат при концентрации 4×10^{-5} и 2×10^{-3} моль/л вызывал небольшие изменения в длине нитей (уменьшение), но по-разному действовал при этих концентрациях на размерные признаки клетки (длину и ширину). Концентрация суперфосфата 4×10^{-5} моль/л повлияла на уменьшение длины клеток, но не отразилась на ширине клеток, тогда как концентрация 2×10^{-3} моль/л приводила к увеличению длины клеток и уменьшению ширины клеток.

Суперфосфат с концентрациями 2×10^{-4} и 4×10^{-4} моль/л действовал примерно одинаково на линейные признаки, приводил к увеличению длины нитей (рис. 8).

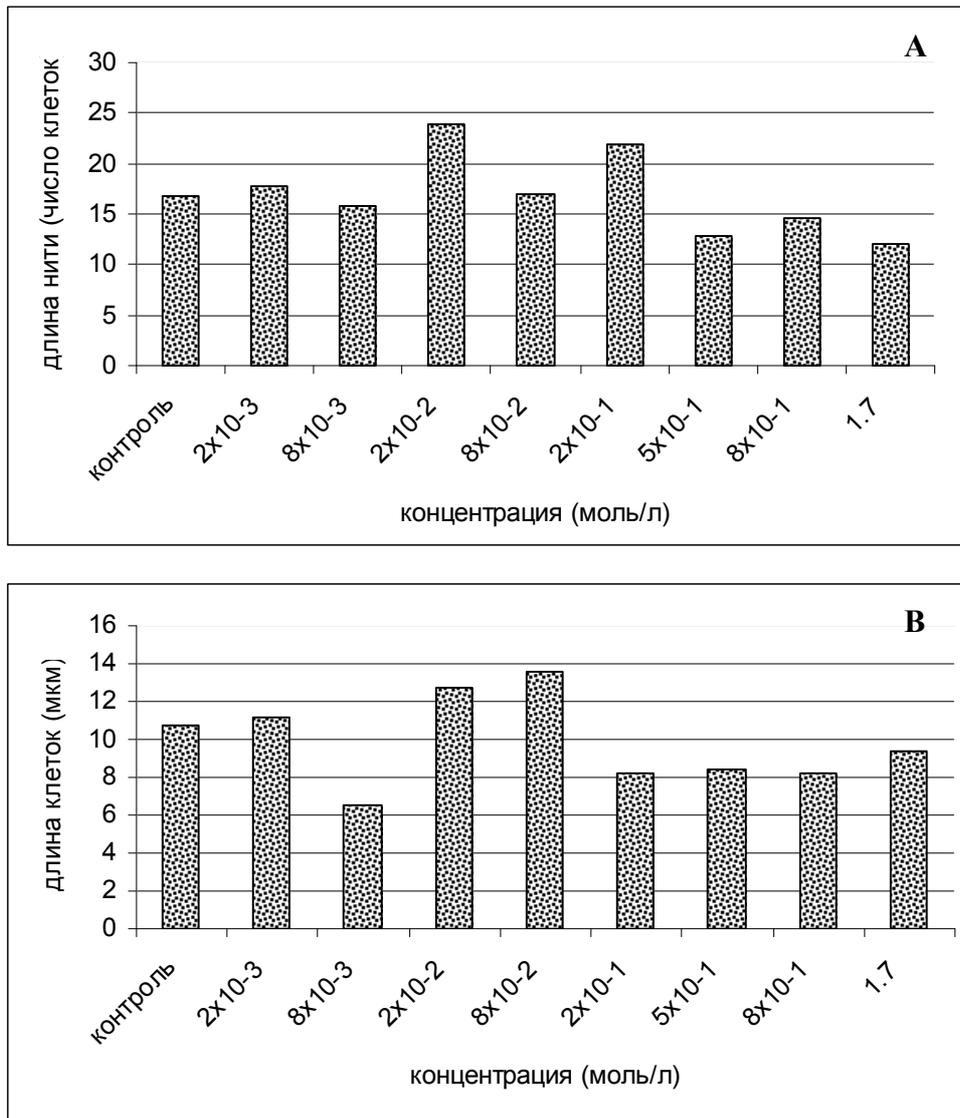


Рис. 9. Влияние мочевины на размерные признаки *K. flaccidum*.

А - длина нити; В – длина клеток.

Концентрации раствора мочевины 2×10^{-1} и 2×10^{-2} моль/л вызывали увеличение числа клеток в нити, но по-разному действовали на длину клеток.

Наименьшая длина клеток наблюдалась при концентрации 8×10^{-3} моль/л. Ширина клеток при всех исследуемых концентрациях менялась в незначительных пределах (рис.9).

При внесении мочевины наблюдались морфологические изменения клеток, грануляция хлоропласта. Скорее всего, это связано с тем, что мочевина обладает специфическими воздействиями на ферментативные системы. Суперфосфат и хлорид калия вызывали незначительное изменение окраски клеток и частичную грануляцию хлоропласта.

В ходе эксперимента был установлен следующий ряд токсичности минеральных удобрений: мочевина > суперфосфат > хлорид калия.

4.6 Гербициды

Изучали влияние гербицидов, используемых в сельском хозяйстве нитрана, бетанала, триаллата в концентрациях 1×10^{-3} - 10^{-8} моль /л., контролем служила питательная среда.

В ходе эксперимента было установлено, что использованные концентрации (1×10^{-3} – 1×10^{-8} моль/л) этих гербицидов вызывали разнообразные морфологические изменения нитей и клеток *K. flaccidum*. В интервале данных концентраций нитран не приводил к гибели. Гибель водоросли наблюдалась при концентрациях бетанала -1×10^{-7} - 1×10^{-8} , а триаллата -1×10^{-8} и в интервале 1×10^{-3} – 1×10^{-6} моль /л.

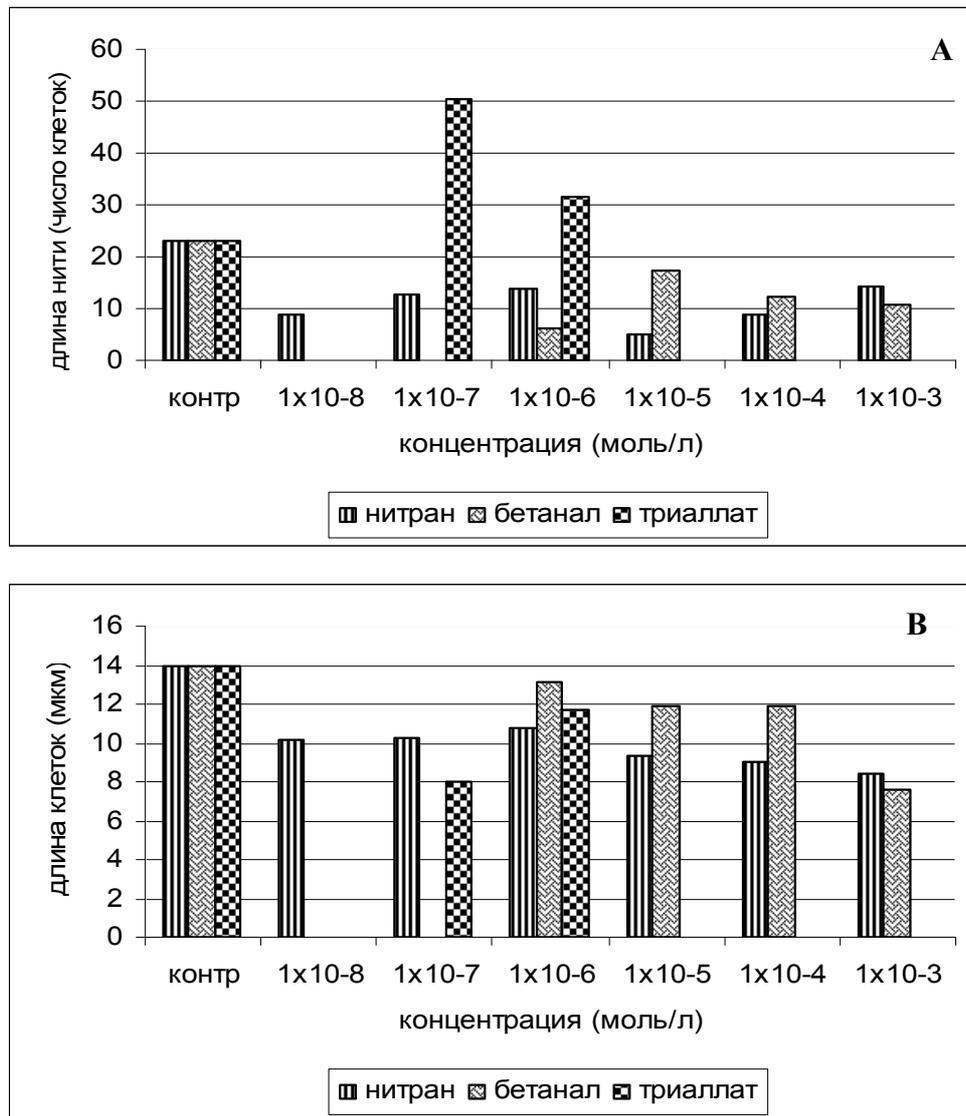


Рис. 10. Влияние гербицидов на линейные признаки *K. flaccidum*.

А – длина нити; В – длина клеток.

Все концентрации нитрана и бетанала приводили к уменьшению числа клеток в нити и длины клеток.

Триаллат привел к увеличению числа клеток в нити, наибольшая длина нити наблюдалась при действии триаллата концентрацией 1×10^{-7} моль/л (рис. 10).

Все исследуемые концентрации гербицидов приводили к уменьшению длины клеток. Наименьшая длина клеток наблюдалась при действии бетанала концентрацией 1×10^{-3} моль/л.

При действии гербицидов, даже с минимальной концентрацией, наблюдали морфологические изменения клеток: изменение окраски, деформацию, грануляцию хлоропластов, видоизменение клеток с цилиндрической на бочонковидную.

ГЛАВА V. ГРАНИЦЫ УСТОЙЧИВОСТИ *KLEBSORMIDIUM FLACCIDUM* К ЭКОЛОГИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ

Действие любого экологического фактора на организм ограничено пределами выносливости (толерантности), по мере удаления от которого происходит угнетение, а в дальнейшем и гибель организма. Для каждого организма характерна зона нормальной жизнедеятельности (оптимум), при которой наблюдается максимальный рост, накапливается биомасса, происходит увеличение численности популяции. Свойство видов адаптироваться к тому или иному диапазону факторов среды носит название «экологическая пластичность» [Степановских, 1997].

В результате исследований действия различных экологических факторов на *K. flaccidum* было выявлено, что все факторы оказали влияние на морфологию водоросли. Однако степень воздействия зависела от вида загрязнителя и его концентрации.

При построении единой шкалы для всех экологических факторов концентрации исследованных веществ перевели в десятичный логарифм (lg).

Были выявлены минимальные концентрации исследуемых факторов, при которых наблюдалась гибель культуры (рис. 11).

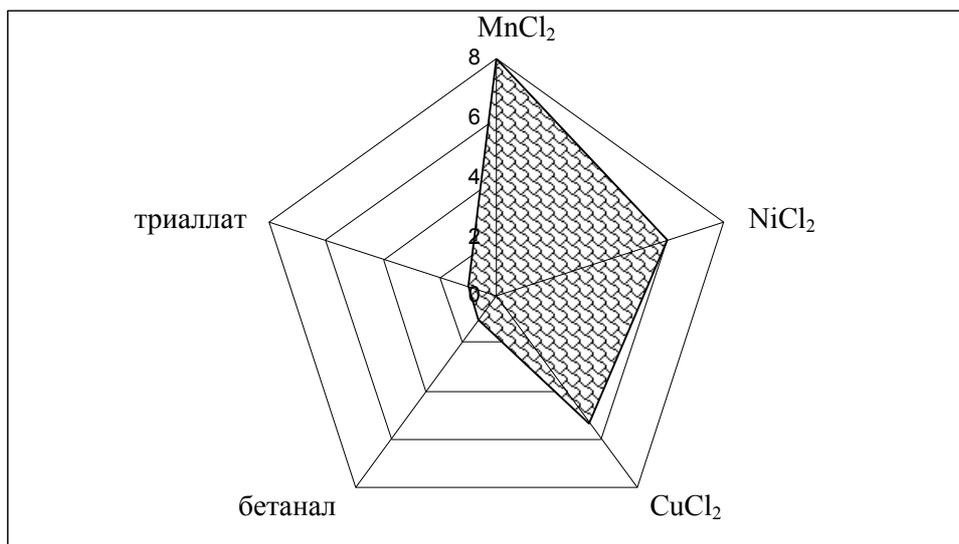


Рис. 11. Концентрации исследуемых веществ, при которых наблюдалась гибель *K. flaccidum*.

Примечание: 0 соответствует контролю, 1 концентрации 1×10^{-8} , 2- 1×10^{-7} , 3- 1×10^{-6} , 4- 1×10^{-5} , 5- 1×10^{-4} , 6- 1×10^{-3} , 7- 1×10^{-2} , 8- 1×10^{-1} моль/л.

Как видно из рисунка 11, гербициды (триаллат и бетанал) оказались более токсичными по сравнению с хлоридами меди, никеля и марганца. Они вызывали гибель культуры *K. flaccidum* при минимальной использованной концентрации 1×10^{-8} моль/л.

В ходе эксперимента было доказано, что при действии исследованных факторов наблюдалось как увеличение, так и уменьшение размерных признаков *K. flaccidum* (длины нити и длины клеток). Действие одних экологических факторов и реагентов (триаллата, CuCl_2 , Na_2CO_3) оказывало влияние на один морфологический признак (длина нити или длина клеток), а действие других факторов (NaCl , NiCl_2 , MnCl_2 , удобрений, нитрана, бетанала) оказывало влияние на несколько морфологических признаков (длина нити и длина клеток).

По результатам действия факторов были установлены концентрации сохранности морфологических показателей (длина нити, длина клеток) *K. flaccidum*. При влиянии хлорида меди на длину клеток – 1×10^{-7} моль/л; хлорида никеля на длину клеток – 1×10^{-4} моль/л; влияние марганца на длину клеток – 1×10^{-2} моль/л.

При засолении морфологический статус длины нити и клеток вида не сохранялся, наблюдалось или угнетение или стимуляция признаков.

При исследовании действия удобрений и гербицидов на морфологический статус *K. flaccidum* (длина нитей и клеток) сохранялся при следующих значениях концентраций факторов: хлорида калия – 1×10^{-1} для длины нитей и – 5×10^{-3} моль/л для длины клеток; суперфосфата для длины клеток – 4×10^{-5} моль/л; мочевины 8×10^{-2} моль/л для длины нитей и 2×10^{-3} для длины клеток; бетанала для клеток – 1×10^{-6} моль/л.

Изучив изменения длины нитей, длины клеток и ширины клеток *Klebsormidium flaccidum* относительно друг друга установили, что ширина клеток более устойчива к влияниям экологических факторов и не меняет своего морфологического статуса.

Выводы

1. *Klebsormidium flaccidum* встречается в различных местообитаниях, характеризующихся широким спектром экологических условий, что обусловлено его высокой экологической пластичностью.
2. При лабораторном культивировании популяций из различных местообитаний наблюдается 3 (повышенный) уровень изменчивости длины нитей, 1 -3 (пониженный, средний, повышенный) уровни изменчивости длины клеток, и нулевой уровень изменчивости ширины клеток.
3. В современных определителях диагноз вида включает: «нити длинные, длина клеток 4-15 мкм», нами установлено, что в естественных местообитаниях длина нити может варьировать в пределах от 3 до нескольких тысяч клеток в нити, длина клеток от 4 до 27 мкм.
4. Граница устойчивости *K. flaccidum* при положительных температурах составили 20-50°C, реакции среды от 3,5 до 8,5. При засолении NaCl – 2×10^{-2} -1,5 моль/л, Na₂CO₃- 5×10^{-4} - 5×10^{-2} моль/л. Под действием CuCl₂ от 1×10^{-10} до 1×10^{-6} ; NiCl₂- 1×10^{-6} - 1×10^{-4} ; MnCl₂- 1×10^{-4} - 1×10^{-2} моль/л. При действии удобрений границы устойчивости находятся в пределах исследуемых концентраций. При действии нитрата - 1×10^{-8} - 1×10^{-3} , бетанала - 1×10^{-6} - 1×10^{-3} , триаллата - 1×10^{-7} - 1×10^{-6} моль/л.
5. Морфологический статус вида сохранялся при внесении тяжёлых металлов: хлорида меди концентрацией 1×10^{-8} моль/л; хлорида марганца - 1×10^{-2} моль/л. При засолении NaCl морфологический статус сохранялся при концентрации 1,5 моль/л, а при внесении Na₂CO₃ при концентрации 5×10^{-4} . При исследовании действия удобрений было установлено, что морфологический статус не меняется при внесении KCl концентрацией 5×10^{-3} моль/л; Ca(H₂PO₄)₂ - 4×10^{-5} моль/л.
6. При температуре 30°C и значениях pH=4,5-6 не наблюдалось изменения морфологического статуса *K. flaccidum*. При значении pH=7,5, MnCl₂ концентрацией 1×10^{-4} моль/л и NaCl концентрацией 2×10^{-2} моль/л наблюдается интенсивный выход апланоспор.
7. Наиболее переменными оказались длина нити и длина клеток, а ширина клеток наиболее стабильна. К основным морфологическим изменениям происходившим под действием экстремальных значений изученных экологических факторов отно-

ются: грануляция и обесцвечивание хлоропластов, нарушение целостности клеточной стенки, появление бочонковидных и бесформенных клеток, сильная изогнутость и фрагментация нитей.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Пурина Е.С., Лыгина Р.И. Биология почвенных водорослей при изучении экологии в вузе и школе // Совершенствование преподавания биологии и химии в ВУЗе и школе: материалы Всероссийской научно-практической конференции.- Бирск 2003. С. 4-6.
2. Пурина Е.С. Роль низших растений в поддержании стабильности наземных экосистем в условиях техногенного стресса // Наука и молодежь: Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции студентов, соискателей, молодых ученых и специалистов (24 мая 2007). – Н.Новгород: ВГИПУ, 2007.-Т.1. С. 128-130.
3. Пурина Е.С., Гайсина Л.А. Возможности использования микроскопической водоросли *Klebsormidium flaccidum* (Kützinger) Silva et al. (Chlorophyta) для биоиндикации почвы // Общие проблемы мониторинга природных экосистем. Всероссийская научно-практическая конференция: Сборник статей. Ч. 2. – Пенза: РИО ПГСХА, 2007. - С. 122-125.
4. Кабироа Р.Р., Пурина Е.С. Влияние радиации на альгогруппировки почвенных водорослей // Проблемы радиоэкологии и пограничных дисциплин: Материалы XXIV Всероссийского научно - практического междисциплинарного семинара 25 – 28 июня 2007г./под общей ред. С.М.Усманова, В.И.Мигунова. – Бирск.:Бирск.гос.соц.-пед.акад., 2007. - С.40-43.
5. Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Сафиуллина Л.М., Пурина Е.С., Абузарова Л.Х. (Зарипова Л.Х.), Кокорина Л.В., Мухаметова Г.М., Бакиева Г.Р. Влияние экстремальных экологических факторов на почвенные водоросли // Материалы Всероссийской конференции XII съезда Русского ботанического общества (22-27 сентября 2008г., Петрозаводск). – Петрозаводск, 2008. – Ч.2. – С.23-26.
6. Пурина Е.С., Лыгина Р.И. Значение водорослей в повышении почвенного плодородия // Креативная деятельность в образовании: теория, технология, прогноз: Материалы региональной научно-практической конференции 20-21 февраля 2009г. / Под редакци-

- ей Н.С. Белобородовой, И.М. Синагатуллина, Ю.П. Правдина – Бирск: Бирск.гос.соц.-пед.акад., 2009.-328с.
7. Егоров С.В., Пурина Е.С. Отдел Chlorophyta как новый ресурс сельского хозяйства // Растительные ресурсы: опыт, проблемы и перспективы: Материалы II Всероссийской научно-практической конференции 20-21 марта 2009 г. – Бирск: Бирск.гос.соц.-пед.акад., 2009.-С.121-123.
 8. Пурина Е.С., Никитина И.В., Лыгина Р.И. Использование почвенной альгофлоры в биомониторинге // Растительные ресурсы: опыт, проблемы и перспективы: Материалы II Всероссийской научно-практической конференции 20-21 марта 2009 г. – Бирск: Бирск.гос.соц.-пед.акад., 2009.-С.157-161.
 9. Никитина И.В., Пурина Е.С. Значение альготестирования в биологическом мониторинге ландшафтов // Растительные ресурсы: опыт, проблемы и перспективы: Материалы II Всероссийской научно-практической конференции 20-21 марта 2009 г. – Бирск: Бирск.гос.соц.-пед.акад., 2009.-С.134-138.
 10. Gaysina LA., Purina ES., Safiullina LM and Bakieva GR. Resistance of *Klebsormidium flaccidum* (Kützing) Silva, Mattox & Blackwell (Streptophyta) to heavy metals.- Plant Sciences, Vol. 3, March 2009. - P. 39-41.
 11. Гаттарова С. Ф., Пурина Е.С., Никитина И.В. Изучение влияния токсичности тяжелых металлов на почвенную альгофлору// Наука в школе и вузе: Материалы научной конференции аспирантов и студентов. Часть I / Под ред. Ш.Г. Зиятдинова. – Бирск: Бирск.гос.соц.-пед.акад., 2009.- 207 с. С. 24-25.
 12. Пурина Е.С., Кабиров Р.Р. Характер устойчивости зеленой водоросли *Klebsormidium flaccidum* к гербицидам// Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – №6. – С.296-297.
 13. Бакиева Г.Р., Гайсина Л.А., Сафиуллина Л.М., Пурина Е.С. Анализ особенностей пространственной организации альгоценозов лесных экосистем Южно-уральского государственного природного заповедника (ЮУГЗ)// Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – №6. – С.55-57.