

УДК 582.232/.275-15

Л. Х. Абузарова, асп., Л. А. Гайсина, канд. биол. наук, доц.,
Л. М. Сафиуллина, ассист., Г. Р. Бакиева, асп.

Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы,
кафедра ботаники, биоэкологии и ландшафтного проектирования
г. Уфа, 450000, ул. Октябрьской революции, 3а, Республика Башкортостан

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ *CYLINDROSPERMUM MICHAILOVSKOËNSE* (CYANOPROKARYOTA) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

Исследовано влияние мочевины и хлорида калия на морфологические признаки вегетативных клеток, гетероцист и спор цианобактерии *Cylindrospermum michailovskoëense* (*Cyanoprokaryota*). Мочевину применяли в концентрациях 2×10^{-3} ; 8×10^{-3} ; 2×10^{-2} ; 8×10^{-2} ; 2×10^{-1} ; 5×10^{-1} ; 8×10^{-1} ; 1,7 моль/л; хлорид калия – 1×10^{-3} ; 5×10^{-3} ; 1×10^{-2} ; 5×10^{-2} ; 1×10^{-1} ; 3×10^{-1} моль/л. Установлено, что для *C. michailovskoëense* мочевина токсичнее хлорида калия. К удобрениям чувствительны вегетативные клетки, еще более чувствительны – гетероцисты, устойчивы споры. Чувствительность цианобактерии к удобрениям открывает возможности её использования в биомониторинге окружающей среды.

Ключевые слова: цианобактерии, *Cylindrospermum michailovskoëense*, морфологические признаки, клетки, споры, гетероцисты

Введение

Минеральные и органические удобрения повышают плодородие почвы, благотворно влияют на почвообразовательный процесс и являются одними из мощных стимулов усиленного развития почвенной биоты [1]. Среди микроорганизмов особую чувствительность к вносимым в почву химическим веществам проявляют цианобактерии и микроскопические водоросли.

В литературе имеются многочисленные данные о роли удобрений на водоросли и цианобактерии [2, 3–6]. Зачастую эти сведения довольно противоречивы [1, 4, 7–12]. Проблема влияния удобрений на разные группы и отдельные виды почвенных организмов изучена не в полной мере и требует дальнейших исследований.

Цель настоящей работы состоит в изучении влияния мочевины и хлорида калия на морфологические признаки цианобактерии Цилиндроспермум михайловский *Cylindrospermum michailovskoëense* Elenkin (*Cyanoprokaryota*), который достаточно часто встречается как в почвах России [13, 14], так и Украины [15].

Материалы и методы

Изучали влияние мочевины и хлорида калия на морфологические признаки цианобактерии *C. michailovskoëense*. В экспериментах использовали изолят цианобактерии, выделенный из пойменной почвы около реки Большая Караганка (Челябинская область). Вид характеризуется прямыми или изогнутыми трихо-

мами, удлинённо-цилиндрическими или бочёнкообразными клетками, наличием терминальных гетероцист и спор.

Цианобактерию выделяли в культуру с поверхности стёкол обрастания, полученную культуру выращивали на жидкой и агаризованной среде Чу-10. Эксперименты проводили в жидкой среде в двукратной повторности. Выбор удобренный определялся тем, что они широко используются в сельском хозяйстве [16]. Химикаты испытывали *in vitro* в следующих концентрациях: мочевины — 2×10^{-3} ; 8×10^{-3} ; 2×10^{-2} ; 8×10^{-2} ; 2×10^{-1} ; 5×10^{-1} ; 8×10^{-1} ; 1,7 моль/л; хлорид калия — 1×10^{-3} ; 5×10^{-3} ; 1×10^{-2} ; 5×10^{-2} ; 1×10^{-1} ; 3×10^{-1} моль/л. Морфометрические измерения проводили по шести показателям: длина и ширина вегетативных клеток, гетероцист и спор в мкм. В каждой серии эксперимента и в контроле просматривали по 50 вегетативных клеток, гетероцист, спор (по 25 из каждой повторности) с помощью светового микроскопа МИКМЕД — 1 ЛОМО (объектив $\times 40$, апертура 0,65) при помощи окуляр-микрометра 510. Просмотр проводили на 7 сутки.

Уровень изменчивости на основании коэффициента вариации оценивали по шкале А. С. Мамаева [17], согласно которой выделяли 3 уровня изменчивости, отражающей разнообразие растительных организмов: пониженный — коэффициент вариации ($cv < 15\%$); средний ($cv = 15-25\%$); повышенный ($cv > 25\%$). Для оценки степени воздействия на размерные признаки *C. michailovskoënsе* использовали следующие статистические показатели: среднюю арифметическую и её ошибку, медиану, стандартное отклонение и значение коэффициента вариации. Достоверность влияния фактора оценивали с использованием коэффициента Стьюдента [18].

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что для *C. michailovskoënsе* мочевины была токсичнее хлорида калия.

Концентрации мочевины 2×10^{-1} и более моль/л приводили к гибели вегетативных клеток цианобактерии. При более низких концентрациях удобрения (2×10^{-3} – 8×10^{-2} моль/л) для клеток была характерна гранулированность цитоплазмы, изогнутость и укорачивание. Гетероцисты были более чувствительны к мочедине и погибали при концентрации удобрения 8×10^{-2} моль/л. Под действием мочевины наблюдали образование тёмно-жёлтых спор с плотной оболочкой. Споры проявили наибольшую устойчивость к ней: они выдерживали концентрации 1,7 моль/л. С ростом переносимых концентраций мочевины отмечалось укорачивание длины клеток, спор и удлинение гетероцист цианобактерии, которое для большинства концентраций было достоверным (табл. 1).

Хлорид калия в концентрациях 5×10^{-2} моль/л и более приводил к гибели вегетативных клеток и гетероцист *C. michailovskoënsе*. При более низких концентрациях отмечалось появление бесформенных и эллипсоидных клеток. При концентрациях хлорида калия 1×10^{-2} моль/л наблюдалось разрушение части гетероцист, которые были разбросаны и оторваны от вегетативных клеток. Споры цианобактерии выдерживали концентрации 3×10^{-1} моль/л хлорида калия. Внесение высоких, но переносимых (пермиссивных) концентраций хлорида калия вызывало удлинение вегетативных клеток *C. michailovskoënsе* (табл. 2).

При увеличении концентраций хлорида калия происходили скачкообразные изменения размерных признаков гетероцист и спор. Хлорид калия приводил к увеличению изменчивости длины и уменьшению изменчивости ширины клеток

и гетероцист. Изменчивость длины и ширины спор при увеличении концентраций удобрения возрастала (кроме концентраций 5×10^{-2} и 3×10^{-1} моль/л, при которых отмечалось уменьшение изменчивости длины спор).

Таблица 1

Влияние мочевины на морфометрические показатели размерных признаков *C. michailovskoënsе*

Концентрация, моль/л	X_{\min}	X_{\max}	$X \pm S_x$	Me	σ	cv, %	$t_{\text{факт}}$
Длина вегетативных клеток. мкм							
Контроль	3,7	6,8	6,06±0,24	5,1	1,36	22,44	-
2×10^{-3}	3,23	6,63	4,97±0,15	5,1	1,03	20,72	9,60*
8×10^{-3}	3,4	5,27	4,10±0,10	3,90	0,72	17,56	9,87*
2×10^{-2}	3,4	7,3	3,97±0,17	3,4	1,18	29,72	2,65*
8×10^{-2}	3,4	7,3	3,96±0,17	3,4	1,17	29,55	2,54*
Ширина клеток. мкм							
Контроль	3,4	5,60	4,04±0,22	3,4	0,64	15,84	-
2×10^{-3}	3,4	5,61	4,42±0,06	4,56	0,78	17,65	5,67*
8×10^{-3}	3,5	5,1	4,05±0,04	4,4	0,73	18,02	5,93*
2×10^{-2}	3,5	5,1	4,05±0,04	4,4	0,73	18,02	5,93*
8×10^{-2}	3,4	5,1	3,74±0,10	3,4	0,69	18,45	12,14*
Длина гетероцист. мкм							
Контроль	5,1	6,8	6,05±0,14	6,63	0,79	13,06	-
2×10^{-3}	5,1	8,5	6,49±0,06	6,8	0,80	12,33	0,43
8×10^{-3}	5,1	8,65	6,62±0,16	6,8	1,06	16,01	11,71*
2×10^{-2}	5,1	8,65	6,63±0,16	6,8	1,06	15,99	5,17*
Ширина гетероцист. мкм							
Контроль	5,1	7,66	6,69±0,12	6,80	0,79	11,81	-
2×10^{-3}	5,44	9,02	7,38±0,13	6,8	0,95	12,87	15,46*
8×10^{-3}	5,1	12	7,48±0,23	6,8	1,56	20,86	0,49
2×10^{-2}	3,4	3,57	3,49±0,01	3,57	0,09	2,58	0,74
Длина спор. мкм							
Контроль	10,2	20,4	15,94±0,22	20,6	3,32	20,83	-
2×10^{-3}	10,2	22,10	13,66±0,24	13,6	2,37	17,35	17,46*
8×10^{-3}	6,8	13,6	10,05±0,19	8,50	2,18	21,69	0,62
2×10^{-2}	10,4	12,07	11,33±0,11	11,9	0,65	5,74	8,24*
8×10^{-2}	10,7	12,41	11,59±0,14	11,9	0,81	6,99	9,36*
2×10^{-1}	8,50	18,0	12,83±0,22	12,4	2,38	18,55	25,64*
5×10^{-1}	10,4	12,07	11,47±0,14	11,9	0,65	5,67	8,18*
8×10^{-1}	8,50	22,10	13,56±0,28	12,4	3,06	22,57	16,14*
1,7	8,50	22,10	13,66±0,29	12,4	3,08	22,55	18,12*
Ширина спор. мкм							
Контроль	6,8	13,6	10,44±0,13	10,2	1,69	16,19	-
2×10^{-3}	6,8	13,6	11,24±0,17	11,9	1,56	13,88	42,15*
8×10^{-3}	9,86	11,05	10,58±0,07	10,54	0,40	3,78	3,17*
2×10^{-2}	6,8	13,6	10,47±0,18	10,2	1,79	17,10	40,21*
8×10^{-2}	6,8	12,3	10,47±0,16	10,2	1,46	13,94	36,47*
2×10^{-1}	6,8	11,9	10,47±0,17	10,2	2,08	19,87	36,51*
5×10^{-1}	6,8	11,9	8,99±0,16	8,5	1,86	20,69	25,64*
8×10^{-1}	6,8	13,6	10,47±0,18	10,2	1,79	17,10	40,21*
1,7	6,8	13,6	10,04±0,16	10,2	1,83	18,23	30,85*

Примечание: X_{\min} - минимальное значение признака; X_{\max} - максимальное значение признака; $X \pm S_x$ - средняя арифметическая и ее ошибка; Me - медиана; σ - стандартное отклонение; cv - коэффициент вариации; $t_{\text{факт}}$ - достоверность различий между опытными и контрольными вариантами по критерию Стьюдента при $P=0,05$; знаком * отмечены достоверные значения критерия Стьюдента при $P=0,05$.

Таблица 2

Влияние хлорида калия на морфометрические показатели размерных признаков *S. michailovskoënsе*

Концентрация, моль/л	X _{min}	X _{max}	X ± S _x	Me	σ	cv, %	t _{факт}
Длина вегетативных клеток, мкм							
Контроль	3,4	5,1	4,35±0,14	6,80	0,69	15,86	-
1×10 ⁻³	5,1	8,5	6,82±0,15	6,8	1,25	18,33	15,40*
5×10 ⁻³	4,6	8,5	5,77±0,13	5,1	0,92	15,94	6,86*
1×10 ⁻²	3,4	5,62	4,51±0,14	3,8	0,80	17,74	7,74*
Ширина клеток, мкм							
Контроль	3,4	5,1	4,09±0,14	3,4	0,86	21,03	-
1×10 ⁻³	3,74	5,1	3,76±0,16	5,1	1,42	37,77	16,52*
5×10 ⁻³	3,7	5,27	4,97±0,16	3,4	0,82	16,50	7,89*
1×10 ⁻²	3,7	5,27	4,92±0,15	3,4	0,81	16,46	7,36*
Длина гетероцист, мкм							
Контроль	5,1	6,8	6,04±0,10	6,62	0,78	12,91	-
1×10 ⁻³	5,27	11,6	7,64±0,14	7,45	1,12	14,66	17,85*
5×10 ⁻³	3,4	4,5	4,36±0,09	3,4	1,34	30,73	3,39*
Ширина гетероцист, мкм							
Контроль	3,57	5,66	6,43±0,18	6,30	1,31	20,37	-
1×10 ⁻³	3,4	5,27	4,36±0,13	4,76	0,69	15,83	3,14*
5×10 ⁻³	3,4	5,27	4,34±0,13	4,76	0,62	14,29	2,16*
Длина спор, мкм							
Контроль	8,5	11,05	9,89±0,15	10,2	1,03	10,41	-
1×10 ⁻³	10,2	13,26	12,10±0,23	12,74	1,43	11,82	1,68
5×10 ⁻³	8,5	15,3	11,97±0,33	11,9	2,35	19,63	4,37*
1×10 ⁻²	8,5	15,3	12,21±0,26	11,9	1,85	15,15	3,64*
5×10 ⁻²	8,5	10,2	9,01±0,10	8,5	0,60	6,66	3,23*
1×10 ⁻¹	8,5	11,05	9,52±0,15	9,35	1,07	11,24	0,91
3×10 ⁻¹	11,9	13,6	12,72±0,1	12,75	0,69	5,42	6,34*
Ширина спор, мкм							
Контроль	8,5	10,2	9,01±0,09	8,5	0,62	6,88	20,32*
1×10 ⁻³	5,1	15,3	9,35±0,23	10,2	2,25	24,06	15,31*
5×10 ⁻³	6,8	13,6	10,49±0,18	10,2	1,59	15,15	34,32*
1×10 ⁻²	6,8	12,3	10,27±0,14	10,2	1,59	15,48	36,2*
5×10 ⁻²	6,8	11,9	10,45±0,16	10,2	2,03	19,43	36,3*
1×10 ⁻¹	6,8	11,9	8,97±0,13	8,5	1,74	19,40	3,39*
3×10 ⁻¹	5,1	15,3	9,65±0,22	10,2	2,24	23,21	15,00*

Примечание. Обозначения такие же, как и в таблице 1.

Таким образом, было установлено, что наименьшей устойчивостью к удобрениям обладали вегетативные клетки и гетероцисты, наиболее устойчивыми оказались споры *S. michailovskoënsе*. Эти данные хорошо объясняются, исходя из морфологии клеток, гетероцист и спор цианобактерий [13]. Исследованные удобрения оказывали воздействие на морфологические признаки цианобактерии, однако характер этих изменений зависел от удобрения. Так, если мочеви́на вызывала уменьшение клеток *S. michailovskoënsе*, то хлорид калия, наоборот, приводил к удлинению клеток.

Выводы

1. Установлено, что мочеви́на *in vitro* более эффективно, чем хлорид калия, влияет на морфологию клеток *S. michailovskoënsе*.

2. При воздействии мочевины гибель вегетативных клеток цианобактерии наступает при концентрации 2×10^{-1} моль/л, гетероцист — при 8×10^{-2} моль/л. Споры проявляют наибольшую устойчивость к ней, т.к. выдерживают концентрации до 1,7 моль/л.

3. При воздействии хлорида калия гибель вегетативных клеток и гетероцист *C. michailovskoënsе* наступает при концентрации 5×10^{-2} моль/л. При концентрациях хлорида калия 1×10^{-2} моль/л наблюдалось разрушение части гетероцист. Споры цианобактерии выдерживали концентрацию 3×10^{-1} моль/л хлорида калия.

4. Изменение концентрации вносимых удобрений приводит к изменению линейных размеров вегетативных клеток, гетероцист, спор (с ростом концентрации мочевины отмечалось уменьшение длины клеток, спор и удлинение гетероцист, при внесении хлорида калия — удлинение вегетативных клеток, гетероцист и спор).

6. Чувствительность *C. michailovskoënsе* к удобрениям открывает возможность её использования в биомониторинге окружающей среды, так как изменение морфологии цианобактерии или гибели ее представителей позволяет судить о степени загрязнения почвы.

Литература

1. Голлербах М. М., Штина Э. А. Почвенные водоросли. — Л.: Наука, 1969. — 228 с.
2. Гайсина Л. А. Биология и экология *Xanthoneta exile* (Klebs) Silva (*Xanthophyceae, Chrysophyta*). Автореф. дис... канд. биол. наук. — Уфа, 2000. — 17 с.
3. Гордеев М. М., Левкина Л. М. О влиянии минеральных удобрений на альгофлору верхового болота // Биогеохимические аспекты криптоиндикации / Тез. докл. Таллин, 1982. — С. 23–24.
4. Дорогостайская Е. В., Новичкова-Иванова Л. Н. Об изменении альгофлоры тундровых почв в результате их освоения // Бот. журнал. — 1967. — Т. 52, № 4. — С. 461–468.
5. Кабиров Р. Р. Альготест как быстрый способ оценки влияния на сообщество почвенных водорослей некоторых химических препаратов и удобрений при их совместном использовании // Экологические проблемы агропромышленного комплекса Башкирской АССР / Тез. докл. республиканской научно-практической конференции. — Уфа, 1989. — С. 66–69.
6. Некрасова К. А., Бусыгина Е. А. Неравномерность пространственного распределения водорослей в почве // Почвоведение. — 1979. — № 10. — С. 83–91.
7. Балежина Л. С. Влияние минеральных удобрений на развитие водорослей в дерново-подзолистой почве // Микробиология. — 1975. — Т. 44, № 2. — С. 341–350.
8. Голлербах М. М. К вопросу о составе и распространении водорослей в почвах // Тр. БИН АН СССР. 1936. Сер. 2. Споры раст. — Вып. 3. — С. 99–302.
9. Bristol-Roach V. M. On the algae of some normal English soils // J. Agr. Sci. — 1927. — Vol. 17. — P. 563–588.
10. Gistl R. Zur kenntnis der erdalgen // Arch. Microbiol. — 1932. — N 3. — P. 634–649.
11. Lund J. W. G. Observation on soil algae. II. Notes on group other than diatoms // New Phytol. — 1947. — Vol. 46, N 1. — P. 35–60.
12. Rebel C. Beitrage zur Biologie der Bodenalgae. Diss. München. — 1959. — 27 s.
13. Вассер С. П., Кондратьева, Н. В., Масюк Н. П. и др. Водоросли. Справочник. — К.: Наук. думка, 1989. — 608 с.
14. Голлербах М. М., Косинская Е. К., Полянский В. И. Определитель синезеленых водорослей. — М., 1953. — 653 с.
15. Водорості ґрунтів України (історія та методи дослідження, система, конспект флори) / І. Ю. Костіков, П. О. Романенко, Е. М. Демченко, Т. М. Дариенко, Т. І. Михайлюк, О. В. Рибчиский, А. М. Солоненко. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 300 с.
16. Безуголова О. С. Удобрения и стимуляторы роста. Серия «Подворье». — Ростов-на-Дону: Феникс, 2000. — 320 с.

17. Мамаев С. А. О закономерностях колебания амплитуды внутривидовой изменчивости количественных признаков в популяциях высших растений // Журн. общей биологии. – 1968. – Т. 29, № 4. – С. 44–45.
18. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.

Л. Х. Абузарова, Л. А. Гайсіна, Л. М. Сафіулліна, Г. Р. Бакієва

Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмулли,
кафедра ботаники, биоэкологии та ландшафтного проектирования
м. Уфа, 450000, вул. Жовтневої революції, 3а, Республіка Башкортостан

**ЗМІНИ МОРФОЛОГІЇ *CYLINDROSPERMUM MICHAILOVSKOËNSE*
(*CYANOPROKARYOTA*) ЗА ДІЇ МІНЕРАЛЬНИХ ДОБРИВ**

Резюме

Досліджено вплив сечовини та хлориду калію на морфологічні ознаки вегетативних клітин, гетероцист та спор ціанобактерії *Cylindrospermum michailovskoënsе* (*Cyanoprokaryota*). Сечовину використовували у концентраціях 2×10^{-3} ; 8×10^{-3} ; 2×10^{-2} ; 8×10^{-2} ; 2×10^{-1} ; 5×10^{-1} ; 8×10^{-1} ; 1,7 моль/л; хлорид калію – 1×10^{-3} ; 5×10^{-3} ; 1×10^{-2} ; 5×10^{-2} ; 1×10^{-1} ; 3×10^{-1} моль/л. Показано, що для *C. michailovskoënsе* мочеви́на була більш токсичною, ніж хлорид калію. Найменша чутливість до добрив була властива вегетативним клітинам, найбільша – гетероцистам, спори *C. michailovskoënsе* стійкі. Чутливість ціанобактерії до добрив відкриває можливості її використання у біомоніторингу навколишнього середовища.

Ключові слова: ціанобактерії, *Cylindrospermum michailovskoënsе*, морфологічні ознаки, клітини, спори, гетероцисти.

L. H. Abuzarova, L. A. Gaisina, L. M. Safiullina, G. R. Bakieva

Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmulla,
Department of botanics, bioecology and landscape design,
Oktyabrskoy revolutzii St. 3A, Ufa, Bashkortostan Republic, 450000

**CHANGE OF *CYLINDROSPERMUM MICHAILOVSKOËNSE* (*CYANOPROKARYOTA*)
MORPHOLOGY UNDER APPLICATION OF MINERAL FERTILIZERS**

Summary

The effect of urea and potassium chloride on vegetative cells, heterocyst and spore morphological characteristics of cyanobacteria *Cylindrospermum michailovskoënsе* (*Cyanoprokaryota*) was studied. Urea was applied at the concentrations of 2×10^{-3} ; 8×10^{-3} ; 2×10^{-2} ; 8×10^{-2} ; 2×10^{-1} ; 5×10^{-1} ; 8×10^{-1} ; 1,7 M/l; potassium chloride was applied at the concentration of 1×10^{-3} ; 5×10^{-3} ; 1×10^{-2} ; 5×10^{-2} ; 1×10^{-1} ; 3×10^{-1} M/l. We found that urea was much toxic than potassium chloride. Also we found that vegetative cells response to fertilizers was minimal, while heterocysts response to fertilizers was maximal, and response of spores was stable. Quick response of cyanobacteria to fertilizers may be used for environment biomonitoring.

Keywords: cyanobacteria, *Cylindrospermum michailovskoënsе*, morphological features, vegetative cells, heterocyst, spore.